

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA**



**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia**

***TESI DI LAUREA***

***NEUROPLASTICITA' NEI DISTURBI DELL'UMORE***

**Relatore:**

**Chiar.ma Prof.ssa Liliana Dell'Osso**

**Candidato:**

**Enrico Massimetti**

**Anno accademico 2009/2010**

# INDICE

<b>Riassunto</b>	<b>pag. 2</b>
<b>Cap. 1: Introduzione</b>	<b>pag. 3</b>
<i>1.1 Depressione Maggiore: quadro socio-Epidemiologico e clinico</i>	<i>pag. 5</i>
<i>1.2 Neurotrofine e Brain Derived Neutrophic Factor (BDNF)</i>	<i>pag. 12</i>
<i>1.3 Meccanismi neurobiologici nella depressione: ruolo del BDNF</i>	<i>pag. 16</i>
<i>1.4 BDNF in pazienti depressi prima e dopo trattamento: studi clinici</i>	<i>pag. 22</i>
<i>1.5 Implicazioni cliniche e neurobiologiche del BDNF nei disturbi dell'umore: l'esperienza condotta presso il Dipartimento di Psichiatria dell'Università di Pisa</i>	<i>pag. 26</i>
<b>Cap. 2: Scopo dello studio</b>	<b>pag. 32</b>
<b>Cap. 3: Materiali e metodi</b>	<b>pag. 34</b>
<i>3.1 Soggetti reclutati</i>	<i>pag. 34</i>
<i>3.2 Valutazione clinica</i>	<i>pag. 35</i>
<i>3.3 Analisi del BDNF</i>	<i>pag. 38</i>
<i>3.4 Analisi statistiche</i>	<i>pag. 39</i>
<b>Cap. 4: Risultati</b>	<b>pag. 40</b>
<b>Cap. 5: Discussione e conclusioni</b>	<b>pag. 46</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>pag. 52</b>

## RIASSUNTO

**Introduzione:** Studi di neuroanatomia, osservazioni condotte sul cervello post-mortem e ricerche di neuroimaging in vivo suggeriscono che la compromissione della neuroplasticità a livello di specifiche reti neuronali possa essere coinvolta nella patogenesi dei disturbi dell'umore. In particolare, studi recenti hanno sottolineato il ruolo di un fattore neurotrofico denominato Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), la cui deplezione è associata a riduzione della neurogenesi e del volume di importanti aree cerebrali tra cui l'ippocampo, la corteccia e l'amigdala. Altre ricerche hanno riscontrato concentrazioni ridotte di BDNF nel sangue di pazienti depressi e un successivo incremento a seguito di trattamento con farmaci antidepressivi o con l'elettroconvulsione. In questa ottica, i disturbi dell'umore, da sempre interpretati come un disturbo della neurotrasmissione, trovano un loro substrato anatomico e neurobiologico.

**Scopo della tesi:** Il presente studio si propone di indagare la relazione fra i livelli plasmatici di BDNF in pazienti depressi e le caratteristiche cliniche del disturbo al fine di ricercare le dimensioni psicopatologiche più rappresentative del nucleo neurobiologico della depressione.

**Materiali e metodi:** Sono stati reclutati 36 pazienti affetti da Depressione Maggiore in accordo con i criteri del DSM-IV-TR afferenti alla Clinica Psichiatrica dell'Università di Pisa. Le valutazioni cliniche sono state effettuate con la Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI), la Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) e la Clinical Global Impressions (CGI). L'analisi dei livelli di BDNF è stata effettuata tramite un apposito kit ELISA.

**Risultati:** È stata evidenziata una correlazione negativa significativa fra la gravità della malattia, valutata per mezzo del punteggio totale HAM-D, ed il livello plasmatico di BDNF. Lo stesso si è verificato con i punteggi dei fattori "rallentamento psicomotorio" e "disturbi cognitivi" della HAM-D. A livello comparativo, i pazienti più gravi sulla base della CGI presentavano livelli di BDNF significativamente più bassi rispetto ai meno gravi. Anche i pazienti con episodi ricorrenti di depressione presentavano livelli di BDNF significativamente più bassi rispetto a quelli con episodio singolo. Infine, i pazienti con la presenza di sintomi dissociativi e quelli con maggiore compromissione del pattern ipnico presentavano livelli di BDNF significativamente più bassi.

**Conclusioni:** L'esistenza di un legame fra bassi livelli di BDNF e la gravità, la ricorrenza ed alcuni dei sintomi più caratteristici della depressione quali i disturbi del sonno ed i deficit a livello psicomotorio e cognitivo sembrerebbe confermare l'ipotesi neurotrofica dei disturbi dell'umore e aprire interessanti prospettive nell'impiego del BDNF plasmatico come biomarker utile nello studio della patologia depressiva.

## Cap.1: Introduzione

Il dogma della stabilità neuronale nell'adulto che, fino a poco tempo fa, sosteneva l'unicità del cervello relativamente alla sua incapacità di ripararsi una volta raggiunta la maturità in età adulta (Ramon y Cajal, 1969), ha influenzato per decenni la ricerca neurobiologica e clinica per lo studio delle malattie mentali. Tale dogma è stato progressivamente messo in discussione da quando si è scoperto che alcune aree del cervello adulto (ad es., l'ippocampo) sono in grado di produrre cambiamenti strutturali, compresa la generazione di nuovi neuroni e cellule cerebrali oltre a nuove connessioni interneuronali, processo denominato neurogenesi adulta. Queste potenzialità del cervello adulto sono state dimostrate per la prima volta in studi condotti sugli animali quali ratti (Altman et al., 1960s e 1970s), uccelli (Goldman e Nottebohm, 1980s) e successivamente primati. Le evidenze nell'uomo provengono da studi condotti negli anni '90 (Eriksson et al., 1998).

Studi successivi sulla plasticità neuronale, sia essa strutturale, sinaptica che morfologica, ne hanno suggerito il ruolo cruciale nelle risposte di adattamento agli stimoli ambientali (Duman, 2004). I cambiamenti strutturali del cervello (atrofia e perdita cellulare delle strutture limbiche), che sono stati dimostrati negli studi postmortem e di neuroimaging di pazienti con malattie correlate all'esposizione ad eventi

stressanti, hanno fornito un contributo essenziale allo studio dell'eziopatogenesi di questi disturbi. Parallelamente, studi analoghi in pazienti con disturbi dell'umore hanno fornito un contributo all'ipotesi neurotrofica di queste malattie. I cambiamenti maladattivi a livello neurobiologico che si verificano nella depressione (i.e. atrofia delle strutture limbiche, ridotta lunghezza e ramificazione dendritica e diminuzione della neurogenesi) e la compromissione della neuroplasticità, rappresentano fattori decisivi per lo sviluppo della malattia.

Le ricerche condotte sulla neurobiologia della depressione si sono focalizzate tradizionalmente sui neurotrasmettitori monoaminici, per spiegare le correlazioni tra ridotta funzione monoaminica a livello cerebrale e patologia depressiva (Hindmarch, 2002). Tuttavia, gli antidepressivi, usati nel trattamento di prima linea della depressione, non esplicano immediatamente il loro effetto clinico ma sono caratterizzati da una latenza nella risposta clinica. Il lasso di tempo che intercorre tra l'inizio della terapia antidepressiva e la risposta alla stessa, nei pazienti in cui si osserva un miglioramento della sintomatologia, può essere spiegato dagli effetti di tali farmaci sul fattore neurotrofico di derivazione cerebrale Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) e su altri sistemi di regolazione della crescita neuronale. L'espressione ridotta di BDNF può inoltre avere conseguenze molto gravi in merito alla funzione delle strutture limbiche preposte al controllo dell'umore e della cognitivà e può comportare una

ridotta neurogenesi e un'atrofia neuronale. Gli effetti di questi farmaci sulla neuroplasticità sono particolarmente rilevanti in quanto, mediante l'aumento dei livelli di BDNF, possono consentire di arrestare o addirittura invertire alterazioni strutturali a livello cerebrale.

La ricerca, che ha come oggetto il ruolo dei fattori neurotrofici nei disturbi neuropsichiatrici, nello sforzo di definire nuove strategie di trattamento per i disturbi dell'umore ha già suggerito target innovativi. Il BDNF è stato infatti somministrato, per via intratecale, nella sclerosi laterale amiotrofica favorendo la neuro genesi, così come sembra in grado di apportare benefici nell'epilessia (Stein et al., 2008).

### ***1.1 Depressione Maggiore: quadro socio-epidemiologico e clinico***

La depressione maggiore colpisce il 15% circa della popolazione nell'arco della vita (negli Stati Uniti gli indici di prevalenza per la depressione maggiore nell'ultimo anno e nell'arco della vita sono del 5.3% e del 13.3%, rispettivamente) (Blazer, 2000; Hasin et al., 2005). La depressione maggiore è due volte più frequente nelle donne rispetto agli uomini (Murphy et al., 2000; Kessler et al., 1994) e il rischio aumenta di 1.5-3.0 volte nel caso di anamnesi familiare positiva per depressione in parenti di primo grado (Bland et al., 1997; Sadovnick et al., 1994). Per quanto riguarda l'età d'esordio questa sembra interessare prevalentemente

l'età giovane-adulta (dai 12 ai 24 anni). La depressione è la causa principale di invalidità a livello mondiale (OMS, 1996) ed è associata a un tasso di morbilità e di mortalità rilevante, quest'ultima spesso correlata anche a suicidio (Bostwick et al., 2000; Soloff et al., 2000). Nella maggior parte dei paesi sviluppati, il suicidio si colloca tra le prime 10 cause di morte di individui di tutte le età, e costituisce la terza causa di morte tra gli adolescenti, dopo gli incidenti in moto e gli omicidi (Mao et al., 1990; Mann J., 2002). Il suicidio rappresenta il 2% circa dei decessi a livello mondiale (World Health Organization Health Systems, 2000).

I disturbi dell'umore sono inoltre associati ad un ridotto funzionamento socio-lavorativo, secondo il Global Burden of Disease Study condotto dall'Organizzazione Mondiale di Sanità (OMS) la depressione è la quarta patologia più costosa a livello mondiale e si prevede che diventi la seconda entro il 2010.

La classificazione dei disturbi dell'umore è tuttora controversa: negli attuali sistemi nosografici, quali il Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (DSM-IV-TR, 2000) e l'International Classification of Diseases (ICD-10, 1992) viene adottato un modello univoco che prevede la differenziazione delle malattie principalmente in base alla gravità, da lieve a moderata a grave (Parker, 2000). Precedentemente era stato proposto un altro modello di tipo binario ovvero endogeno/melanconico versus neurotico/reattivo: secondo il Glossario dei Disturbi Mentali ICD-10

(OMS, 1994) la depressione endogena (psicosi maniaco-depressiva, tipo depressivo) è stata definita come “una psicosi affettiva che presenta ridotta attività, umore depresso generalizzato, sentimenti di autosvalutazione, ipocondria, disturbi del sonno, dell’appetito, nella sfera sessuale e nel funzionamento socio-lavorativo. Le variazioni circadiane possono essere più marcate. In realtà, risultati più recenti dimostrano l’assenza di una netta demarcazione tra depressione lieve, moderata e grave, ponendo l’accento sulla presenza di una continuità tra i vari stati piuttosto che su una categorizzazione della malattia. Inoltre, è stato osservato che i sintomi depressivi possono cambiare con il passare del tempo e rientrare nei criteri di depressione maggiore, depressione minore, distimia o nelle forme subsindromiche nelle varie fasi. Studi genetici infine confermano come la maggior parte dei disturbi depressivi derivi dall’interazione tra geni ed eventi di vita ridimensionando i concetti di depressione “reattiva” (Kessing, 2007). L’approccio che concettualizza la depressione come disturbo unitario con una singola patofisiologia è stato criticato da diversi autori (Klein, 1974; Parker, 2000; VanPraag, 1993) che difendono la linea di ricerca che mira a validare diversi fenotipi di depressione sulla base della specificità del trattamento e degli studi di esito longitudinale. Viene infatti definita la depressione melanconica (endogena), caratterizzata da un quadro sintomatologico tipico con alterazioni psicomotorie, un tasso relativamente basso di risposta al placebo e una dubbia risposta alla

psicoterapia. (Klerman, 1971; Paykel, 1971; Thase e Friedman, 1999). La depressione psicotica, caratterizzata da episodi maniacali e la presenza di allucinazioni. La depressione ansiosa (neurotica), associata a sintomi d'ansia, disturbi di personalità e alterazioni del temperamento (Winokur, 1985). La depressione atipica, caratterizzata da irritabilità e insofferenza, sintomi neurovegetativi opposti inversi, rispetto alla forma classica, e una sensibilità al rifiuto nei rapporti interpersonali (Liebowitz e Klein, 1979).

Diversi fattori di rischio sono stati individuati per un esito negativo. In particolare le caratteristiche socio-demografiche (come l'appartenenza all'etnia non caucasica, genere femminile, età avanzata, scarsa scolarizzazione, solitudine, pensionamento e problemi finanziari) (Trivedi et al., 2006; Cohen et al., 2006) e le caratteristiche cliniche, compresi i sottotipi depressivi (depressione atipica, psicotica e bipolare) e la comorbilità con disturbi d'ansia ( in particolare disturbo di panico, ossessivo compulsivo e post-traumatico da stress), da uso di alcool e sostanze stupefacenti, della personalità e la comorbilità medica (come ipotiroidismo, ictus, diabete, patologie coronariche, morbo di Parkinson, immunodeficienza, cancro e dolore cronico) (Keller et al., 1986; Paykel et al., 1973; Alexopoulos et al., 2001; Liebowitz et al., 1988; Charney e Nelson, 1981; Kupfer et al., 2000; Frank et al., 2000, 2002; Trivedi et al., 2006; DeBattista e Mueller, 2001; Nunes et al., 1996; O'Reardon e Amsterdam, 2001).

Gli episodi depressivi maggiori devono essere distinti a seconda che siano presenti nel contesto di un disturbo unipolare o bipolare dell'umore. Tale distinzione è fondamentale sebbene una diagnosi iniziale errata sia tuttora una circostanza frequente (Ghaemi et al., 1999; Ghaemi et al., 2000; Hirschfeld et al., 2003) e, con essa, il ritardo nell'instaurare una terapia appropriata ed un esito prognostico sfavorevole (Altshuler et al., 1995; Wehr et al., 1987; Goldberg et al., 2002). Di conseguenza numerosi studi sono stati incentrati sulla distinzione tra le due forme depressive. Da un punto di vista clinico, la depressione bipolare è maggiormente caratterizzata da una sintomatologia che comprende insonnia, ipersonnia, apatia, un tasso più elevato di tentativi di suicidio, maggiore rallentamento psicomotorio, e sintomi psicotici, rispetto alla visione pessimistica e alla sensazione di inutilità che si manifestano nella depressione unipolare (Mitchell e Malhi, 2004; Potter, 1998). I pazienti con depressione nell'ambito di un disturbo bipolare tendono ad avere un esordio più precoce (il rischio di sviluppare il disturbo bipolare nell'arco della vita è almeno due volte più alto nei pazienti che presentano episodi di depressione ricorrenti prima dei 20 anni) e una storia familiare di disturbo bipolare o di mania (Goodwin e Jamison, 1990, 2007; Akiskal et al., 1983; Winokur et al., 1995).

Con riferimento alla depressione bipolare, la maggior parte degli studi condotti ha documentato una maggiore prevalenza di caratteristiche

atipiche o di sintomi neurovegetativi inversi, come ipersonnia o perfagia (Akiskal et al., 1983; Perugi et al., 1998; Benazzi F, 1999; Benazzi F., 2003). Analogamente, molti studi hanno documentato che nei pazienti colpiti da depressione bipolare vi è una maggiore prevalenza di sintomi melanconici (Mitchell et al., 2001; Parker et al., 2000). Infine, alla depressione bipolare sono stati associati sintomi quali irritabilità (Benazzi et al., 2004; Deckersbach et al., 2004), rabbia (Perlis et al., 2004; Mammen et al., 2004), sintomi misti dell'umore come iperattività (Benazzi F., 2003) e psicosi (Akiskal, 1995; Mitchell et al., 2001). È stato suggerito che il disturbo bipolare misconosciuto può essere frequente nei pazienti con una storia di scarsa risposta alla terapia antidepressiva (Ghaemi et al., 2000) così come la presenza di switch maniacali in corso di trattamento con antidepressivi considerati il principale indicatore di bipolarità in pazienti con depressione (Chun e Dunner, 2004). In pazienti con disturbo bipolare inoltre, gli antidepressivi possono indurre sintomi di agitazione, aggravamento dell'insonnia, idee grandiose, accelerazione ideica (Akiskal, 2005). Perlis e collaboratori (2006) sono giunti alla conclusione che la depressione bipolare e la depressione unipolare mostrino delle sottili differenze nella fase di esordio e questo possa contribuire a stabilire la diagnosi iniziale. In particolare, la depressione bipolare, come già ricordato, sarebbe associata ad un'anamnesi familiare positiva per disturbo bipolare, un esordio precoce in età giovanile, un numero maggiore di

episodi depressivi pregressi e a sintomi d'ansia, sia somatica che cognitiva. Sintomi d'ansia sarebbero più frequenti nei pazienti affetti da disturbo bipolare, mentre tristezza, insonnia, disturbi cognitivi, somatici (muscolari), respiratori, genitourinari sono più diffusi nei pazienti con depressione unipolare.

Nell'ambito del disturbo bipolare è interessante osservare come gli episodi depressivi e i sintomi depressivi affliggano i pazienti per tempi più prolungati rispetto a qualsiasi altra fase dell'umore: la durata degli episodi depressivi copre infatti il 31.9% e il 50.3% delle settimane per il disturbo bipolare di tipo I e di tipo II rispettivamente, mentre la durata degli stati maniacali o ipomaniacali nei pazienti appartenenti a entrambi i gruppi è pari all'8.9% e all'1.3% rispettivamente (Judd et al., 2002; 2008). I sintomi depressivi nell'ambito del disturbo bipolare sono associati ad una maggiore invalidità, un maggiore peso economico (Bowden e Krishnan, 2004; Mitchell e Malhi, 2004) e a un rischio più elevato di tentativi di suicidio e di suicidio (la percentuale stimata relativa ai tassi di suicidio nel disturbo bipolare è pari al 15% circa) rispetto alle fasi maniacali (Simpson e Jamison, 1999).

Più recentemente è stato suggerito un costrutto dimensionale per i disturbi dell'umore quale alternativa all'approccio categoriale del Manuale Diagnostico e Statistico dei disturbi Mentali (DSM) (Goodwin e Jamison, 1990; Akiskal, 1996; Dunner, 2003). Tale classificazione, ascrivibile allo

spettro bipolare dell'umore, è ispirata da un'analogia con patologie della medicina generale come l'ipertensione, che possono essere considerate come parte di un continuum. L'ipotesi di uno spettro bipolare dell'umore suggerisce che possono esistere forme meno convenzionali di disturbo bipolare al di fuori della patologia maniaco-depressiva classica o del disturbo bipolare di Asse I (Akiskal, 1996; Cassano et al., 1999; Ghaemi et al., 2002; Katzow et al., 2003; Angst e Cassano, 2004). Questi autori sostengono il concetto Kraepeliniano dei disturbi maniaco-depressivi al cui interno si colloca non solo il disturbo bipolare definito secondo le categorie del DMS-IV ma anche buona parte del vasto terreno connesso con la depressione maggiore ricorrente.

## ***1.2 Neurotrofine e Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)***

Le neurotrofine rappresentano una famiglia di fattori di regolazione omologhi a livello strutturale e funzionale, che mediano la differenziazione e la sopravvivenza dei neuroni centrali e periferici e la modulazione della plasticità sinaptica (Patapoutian e Reichardt 2001). La famiglia delle neurotrofine comprende il fattore di crescita nervosa (NGF), il fattore neurotrofico di derivazione cerebrale (BDNF), le neurotrofine (NTs) 3, NT4/5 e NT6 (Patapoutian e Reichardt 2001). Queste diverse proteine correlano in termini di omologia sequenziale e di specificità recettoriale.

Inoltre esse legano e attivano il recettore specifico della tirosina chinasi che appartiene alla famiglia dei recettori TrK, alla quale fanno capo i gruppi TrKA, TrKB e TrKC e un recettore pan-neurotrofinico P75 (Patapoutian e Reichardt 2001). Le NTs possono essere secrete stabilmente o transitoriamente, e spesso in una modalità attività-dipendente. Osservazioni recenti supportano un modello in cui le NTs sono secrete localmente dai dendriti e in genere agiscono per via retrograda verso le terminazioni presinaptiche per indurre alterazioni di lunga durata. Oltre al loro ruolo classico nella differenziazione neuronale e nella sopravvivenza, le NTs sono state altresì implicate nella crescita assonale e nella plasticità sinaptica (Thoenen, 1995). È stato dimostrato che le NTs aumentano la lunghezza e la complessità degli alberi dendritici nei neuroni corticali (McAllister et al., 1995). Tuttavia, questo effetto potrebbe essere abolito in caso fosse disattivata l'attività bioelettrica dei neuroni, la trasmissione sinaptica o i canali  $Ca^{++}$  di tipo L (Mc Allister et al., 1996). Secondo l'ipotesi neurotrofinica, l'attività neuronale ripetitiva aumenta l'espressione, la secrezione e/o le azioni delle neurotrofine verso le sinapsi per modificare la trasmissione e la connettività sinaptica e quindi permettere una connessione tra attività neuronale e plasticità sinaptica. Le NTs possono avere sia un ruolo istruttivo che permissivo nell'alterazione sinaptica attività-dipendente del cervello in fase di crescita e nel cervello adulto. In quanto al ruolo istruttivo, l'alterazione è una conseguenza dell'azione delle NTs sulla

sinapsi per modificare direttamente il rilascio trasmettente presinaptico, la sensibilità sinaptica o la morfologia sinaptica, portando quindi a un'alterazione sinaptica persistente. In quanto invece al ruolo permissivo, l'alterazione è indotta da altri fattori associati all'attività neuronale, mentre le NTs hanno funzioni di pulizia necessarie per i cambiamenti della sinapsi. All'interno della famiglia delle neurotrofine, il BDNF si distingue quale potente fattore fisiologico di sopravvivenza e si ritiene che abbia un ruolo importante nella sopravvivenza, differenziazione e crescita di neuroni centrali e periferici durante la crescita e nell'età adulta. Di fatto, il BDNF costituisce il fattore trofico maggiormente diffuso nel cervello e partecipa ai meccanismi di plasticità come il potenziamento a lungo termine, l'apprendimento e la memoria (Schinder et al., 2000). Gli effetti cellulari del BDNF sono mediati da due tipi di recettori: un recettore tirosina chinasi ad alta affinità (TrkB); ed un recettore pan-neurotrofinico a bassa affinità (P75). Il BDNF produce inoltre effetti molto più acuti sulla plasticità sinaptica e sul rilascio neurotrasmettitoriale e agevola il rilascio di glutammato, acido  $\gamma$ -aminobutirico (GABA), dopamina e serotonina (Goggi et al., 2002; Schinder et al., 2000). È alquanto rilevante come, nonostante i fattori neurotrofici endogeni siano stati tradizionalmente considerati in grado di aumentare la sopravvivenza cellulare mediante il supporto trofico necessario, i loro effetti a favore della sopravvivenza siano in larga misura mediati da un'inibizione della cascata apoptotica delle

cellule (Riccio et al., 1999). Vi sono sempre maggiori evidenze secondo cui i fattori neurotrofici producono un effetto inibitorio sulla cascata apoptotica mediante l'attivazione del meccanismo di segnalazione della proteina chinasi attivata da mitogeno (MAP) e della Fosfotidilinositolo 3-chinasi/Akt (PI-3K). Il BDNF è noto per i suoi effetti neurotrofici e neuroprotettivi a lungo termine che possono essere molto importanti relativamente al suo ruolo putativo nella patofisiologia e nella terapia dei disturbi dell'umore. Il BDNF mRNA non è sintetizzato solamente a livello neuronale ma anche in molti altri tessuti ed organi periferici quali pareti aortiche, endotelio, cuore, reni, ghiandole sottomascellari, ovaie, gangli dorsali, muscoli e polmoni (prove sperimentali nei topi) (Fujimura et al., 2002). Il BDNF viene rilasciato in tali sedi dalle cellule bersaglio dei neuroni e agisce come fattore di sopravvivenza negli stessi.

Circa 10 anni fa, Rosenfeld e colleghi hanno rilevato la presenza del BDNF anche a livello ematico (Rosenfeld et al., 1995). I livelli di BDNF sono circa 10 volte superiori nel siero rispetto al plasma, forse perché le piastrine rilasciano elevate quantità di BDNF quando sono attivate. Di fatto, le piastrine non sono capaci di produrre il BDNF ma lo catturano dal plasma attraverso un meccanismo non ancora noto (Fujimura et al., 2002). Il BDNF plasmatico è verosimilmente prodotto dall'endotelio, dalla muscolatura liscia e dai macrofagi e linfociti attivati. Gli autori hanno opinioni divergenti in merito al superamento della barriera emato-

encefalica da parte del BDNF (Pan et al., 1998) quindi non è chiaro se i neuroni centrali e gliali influenzino di fatto la concentrazione ematica del BDNF. Tuttavia, ulteriori fattori di crescita periferica come il VEGF e l'IGF-1 possono penetrare nel cervello (Pan et al., 1998): com'è analogamente in grado di fare il BDNF, influenzando la neurogenesi e la funzione del SNC. Inoltre, il ruolo del BDNF a livello piastrinico non è ancora noto: probabilmente ha una funzione specifica nei traumi tissutali, lesioni nervose ed emorragie. Infatti, quando le piastrine attivate rilasciano il BDNF, quest'ultimo avrebbe probabilmente un ruolo nell'inflammatione e nella proliferazione cellulare e della muscolatura liscia.

### ***1.3 Meccanismi neurobiologici nella depressione: ruolo del BDNF***

Parallelamente alle ipotesi monoaminergiche è recentemente emerso un interesse crescente in merito al ruolo delle neurotrofine nelle patologie neuropsichiatriche.

Molteplici evidenze suggeriscono che il BDNF, uno dei principali fattori neurotrofici, abbia un ruolo importante nel mantenimento e nella sopravvivenza dei neuroni nella plasticità sinaptica (Dwivedi Y., 2009). Molti studi pre-clinici e clinici hanno portato alla formulazione dell'“ipotesi neurotrofica della depressione”, che indica come lo stress e la depressione siano associati a una ridotta espressione di BDNF e che i

farmaci antidepressivi che attenuano il comportamento depressivo, ne aumentano il livello (Duman et al., 2000; Duman RS, 2002). Il ruolo del BDNF può rivelarsi decisivo nella patofisiologia della depressione e nei meccanismi d'azione dei farmaci antidepressivi, a causa del suo coinvolgimento nella plasticità sinaptica. Come già ricordato infatti, è stato dimostrato che la compromissione della plasticità sinaptica e strutturale sono associate alla depressione. Tali osservazioni dimostrano che la depressione può essere associata all'incapacità dei sistemi neuronali di mostrare una plasticità adattativa. Tuttavia, nonostante l'impatto devastante della depressione su numerosi individui, la precisa natura cellulare e molecolare degli eventi che hanno portato a una plasticità funzionale e strutturale compromessa nella depressione rimane incerta. Permane ancora una scarsa conoscenza circa i meccanismi che sono alla base della patogenesi di questa patologia.

Gli elementi a favore dell'ipotesi neurotrofica sono forniti dalla maggior parte degli studi post-mortem nei soggetti che erano affetti da depressione maggiore che mostravano una struttura cerebrale alterata, come una riduzione del numero delle cellule, densità, dimensione del corpo delle cellule, densità neuronale e gliale nelle aree del cervello corticali frontali o ippocampali e una riduzione dello spessore nella corteccia paraippocampale e corticale/laminare (Altshuler et al., 1990; Rajkowska et al., 1997; Ongur et al., 1998; Rosoklija et al., 2000; Cotter et al., 2001;

Rajkowska et al., 2000; Cotter et al., 2002; Miguel- Hidalgo et al., 2002; Rajkowska et al., 2002). Tali studi sono inoltre in accordo con il ridotto supporto neurotrofico nella patologia depressiva. Sono state documentate delle riduzioni nel volume nella corteccia frontale che vanno dal 7% della riduzione complessiva nel volume del lobo frontale nella depressione maggiore (Coffey et al., 1992) al 48% nella corteccia pre-frontale subgenuale (Drevets et al., 1997). Molti studi hanno esaminato il volume ippocampale nella depressione. Alcuni (MacQueen et al 2003; Sheline,1996), ma non tutti (Vakili et al 2000), hanno rilevato riduzioni importanti nei volumi ippocampali nella depressione. Nella maggior parte di questi studi che hanno valutato la gravità della depressione nei soggetti bipolari e che hanno usato tecniche MRI ad alta risoluzione, la depressione è stata associata a una perdita del volume ippocampale, con una percentuale dall'8 al 19%. L'ippocampo è una delle due zone neurogeniche nel sistema nervoso centrale dell'adulto; l'altra è costituita dalla zona subgranulare dalla quale originano i neuroni nel bulbo olfattivo. Il tasso di proliferazione e di sopravvivenza dei neuroni appena formati nell'ippocampo è inoltre regolata in maniera dinamica verso l'alto e verso il basso da una varietà di stimoli (Duman 2004). Lo stress è uno tra i maggiori regolatori negativi della neurogenesi nell'adulto ed esperienze di vita stressanti possono condurre a un episodio di depressione (Kessler, 1997; Heim e Nemeroff, 2001).

La presenza di un'asse ipotalamo-ipofisi-surrene iperattiva è stata infatti dimostrata nella condizione di stress. Gli studi condotti nei modelli pre-clinici hanno dimostrato una disregolazione indotta da stress nell'espressione di BDNF. Smith e colleghi (1995) hanno esaminato per la prima volta il ruolo dello stress e hanno dimostrato che lo stress da immobilizzazione per un periodo da 1 a 7 giorni (per due ore al giorno) aveva ridotto in maniera significativa l'espressione di BDNF mRNA nell'ippocampo. Ciò è stato in seguito confermato da altri ricercatori (Ueyama et al., 1997; Vaidya et al., 1997). Simili alterazioni sono state osservate quando venivano utilizzati diversi tipi di fattori di stress.

Alcuni fattori di stress come l'insuccesso sociale comportavano una diminuzione nell'espressione del BDNF non solo nell'ippocampo ma anche nelle aree corticali e subcorticali dei topi. È interessante notare che la separazione dalla figura materna è stata associata allo sviluppo del comportamento di tipo depressivo in età adulta, peraltro correlato a un'espressione ridotta di BDNF (Roceri et al., 2002). Questo studio suggerisce che un insulto precoce nella fase dello sviluppo dell'individuo causa l'insorgenza della depressione in uno stadio più avanzato della vita, che viene regolata da anomalie nella segnalazione BDNF-mediata.

Molti studi hanno dimostrato che l'esposizione al corticosterone esogeno (per mimare l'effetto dello stress) riduce inoltre l'espressione di BDNF nell'ippocampo dei roditori, similmente a quanto è stato osservato

nei vari modelli pre-clinici di stress (Smith et al., 1995; Chao et al., 1998; Schaaf et al., 1997; Schaaf et al., 1998). Quando il corticosterone endogeno veniva rimosso attraverso adrenalectomia, il livello di BDNF nell'ippocampo aumentava (Barbany et al., 1992; Chao et al., 1998). D'altro canto, la sostituzione a base di desametasone nei topi adrenalectomizzati aveva riportato l'espressione di BDNF ai livelli di controllo (Barbany et al., 1992). Questi studi hanno dimostrato che l'espressione di BDNF è regolata mediante i glucocorticoidi. Diversi studi clinici indicano la possibilità che un sottogruppo di pazienti affetti da depressione manifestano cambiamenti a livello neuroendocrino [ipersecrezione di glucocorticoidi (Sapolsky, 2000) o rivelano un'iperattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) (Arborelius et al., 1999)] Inoltre, è stata osservata una riduzione differenziata del volume ippocampale nei pazienti che presentavano iperattività HPA (Sapolsky, 2000). Sebbene i cambiamenti stress-indotti nell'ippocampo non possano spiegare i sintomi affettivi della depressione, essi forniscono una base cellulare per la comprensione delle menomazioni strutturali osservate in questa regione del cervello come anche in altre regioni associate alla depressione.

Gli studi di neuroimaging forniscono un'opportunità senza precedenti consentendo di spiegare le correlazioni anatomiche della patologia affettiva. Gli studi di neuroimaging sulla depressione maggiore hanno

individuato anomalie neurofisiologiche in molteplici aree della corteccia orbitale e pre-frontale mediale, dell'amigdala e delle parti connesse con il corpo striato e il talamo. Si ipotizza quindi che la disfunzione che coinvolge queste regioni abbia un ruolo nella patogenesi dei sintomi depressivi. Gli strumenti di imaging funzionale come la tomografia a emissione di positroni (PET), la tomografia computerizzata a emissione di singolo fotone (SPECT) e la risonanza magnetica funzionale (RMF), hanno reso possibile caratterizzazioni in vivo delle correlazioni neurofisiologiche e/o farmacologico e recettoriali degli stati emozionali normali e patologici, della risposta e resistenza al trattamento e delle patologie croniche o ricorrenti. I dati in vivo ottenuti mediante l'imaging neuronale cominciano a guidare gli studi post-mortem relativi ai disturbi dell'umore permettendo di delimitare le aree in cui il volume della materia grigia è anomalo e di definire le condizioni cliniche in cui si presentano tali anomalie (Drevets, 2000). Gli studi condotti mediante la risonanza magnetica (RM) e la tomografia computerizzata (TC) hanno dimostrato una diffusa atrofia corticale e subcorticale e un ingrossamento ventricolare nella depressione sopraggiunta in età avanzata (Pantel et al., 1997; Rabins et al., 1991; Rothschild et al., 1989; Soares e Mann., 1997). Molti studi hanno scoperto volumi ridotti di strutture gangliari basali nella depressione maggiore, specialmente nella depressione a esordio tardivo (Greenwald et al., 1997; Husain et al., 1991; Krishnan et al., 1992).

Di conseguenza, un'alterazione patologica del sistema di regolazione del fattore neurotrofico non solo potrebbe portare a difetti di mantenimento e rigenerazione neuronale e quindi ad anomalie strutturali a livello cerebrale, ma anche a una riduzione della plasticità neuronale che, di conseguenza, potrebbe compromettere la capacità dell'individuo di adattarsi a situazioni di crisi.

#### ***1.4 BDNF in pazienti depressi prima e dopo trattamento: studi clinici***

Esistono numerose evidenze sull'importante ruolo del BDNF nella patofisiologia dei disturbi dell'umore (Duman et al., 1997; Duman RS, 2004; Post RM, 2007; Stein et al., 2008). Gli studi post-mortem hanno dimostrato un'aumentata espressione di BDNF nel cervello di pazienti depressi trattati con farmaci antidepressivi rispetto a quelli che non avevano ricevuto alcun trattamento (Chen et al., 2001). Recentemente, molti studi hanno tentato di esaminare il livello di BDNF nel siero e nelle piastrine dei soggetti depressi con o senza trattamento con antidepressivi. Nonostante sia tutt'ora discusso il significato del BDNF nelle cellule ematiche, è stato dimostrato che il BDNF è in grado di attraversare la barriera emato-encefalica e che il BDNF piastrinico rivela alterazioni analoghe a livello cerebrale (Karege et al., 2002), suggerendo l'esistenza di cambiamenti paralleli nei livelli di BDNF nel sangue e nel cervello. Livelli

sierici e plasmatici più bassi di BDNF sono stati riscontrati nei pazienti affetti da depressione maggiore rispetto ai soggetti di controllo normali (Gonul et al., 2003; Karege et al., 2005; Huang et al., 2007; Piccinni et al., 2008; Sen et al., 2008). Karege e collaboratori (2002) sono stati i primi a scoprire che il livello sierico del BDNF dei soggetti depressi era notevolmente più basso rispetto ai soggetti di controllo sani. Tale riduzione è stata correlata negativamente con la gravità della depressione. Recentemente, lo stesso gruppo di ricercatori ha dimostrato che un'alterazione nei livelli plasmatici o sierici di BDNF non è tanto dovuta ad un cambiamento nei livelli ematici periferici, ma sembra piuttosto correlata ad alterazioni nei meccanismi di rilascio centrale (Karege et al., 2005). Altri studi hanno cominciato a esaminare il BDNF sierico mediante la comparazione dei livelli nei pazienti depressi prima e dopo il trattamento farmacologico con antidepressivi. Alcuni studi hanno riscontrato una riduzione del BDNF sierico nei pazienti depressi e una differenza notevole in seguito al trattamento con antidepressivi (Gonul et al., 2005; Piccinni et al., 2008). D'altra parte, Matrisciano et al. (2009) hanno riscontrato che il livello sierico di BDNF era più basso rispetto ai valori abituali nei pazienti depressi rispetto ai soggetti sani e che la sertralina induceva un aumento dei livelli di BDNF dopo 5 settimane e 6 mesi di trattamento mentre l'escitalopram portava all'aumento dei livelli di BDNF solo dopo 6 mesi. La venlafaxina non ha indotto modificazioni nei livelli di BDNF. Inoltre, è

emersa una correlazione negativa tra l'aumento del livello di BDNF e la riduzione dei punteggi della Hamilton Depression Rating Scale. Allo stesso modo, è stato riportato un aumento dei livelli sierici di BDNF quale effetto dell'amitriptilina dopo 4 o 8 settimane, o della vanalfaxina dopo 12 settimane di trattamento nei pazienti depressi (Aydemir et al., 2005; Yoshimura et al., 2007; Hellweg et al., 2008).

Molti studi hanno documentato un aumento nel livello sierico di BDNF nei pazienti depressi non solo in seguito a trattamento antidepressivo ma anche mediante la stimolazione del nervo vago, la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (Lang et al., 2006) o la terapia elettroconvulsivante (Bocchio Chiavetto et al., 2006). In due recenti metanalisi (Brunoni et al. 2008; Sen et al., 2008), diversi autori sono giunti alla conclusione che i livelli di BDNF sono più bassi nei pazienti depressi rispetto agli individui di controllo sani e che i livelli di BDNF sono considerevolmente più elevati in seguito a trattamento antidepressivo. In generale, l'assunzione di farmaci psicotropi da parte di pazienti affetti da disturbi dell'umore è stata considerata come una fonte di potenziale pregiudizio (de Oliveira et al., 2009), in quanto alcune evidenze suggeriscono che gli antidepressivi comportano una normalizzazione dei livelli di BDNF sierico (Huang et al., 2008; Gonul et al., 2003), sebbene si disponga anche di dati contrari (Yoshimura et al., 2007). Recentemente, sono stati riscontrati bassi livelli di BDNF nei pazienti eutimici affetti da

depressione unipolare e bipolare, a prescindere dal trattamento (Monteleone et al., 2008).

Complessivamente, tali risultati forniscono una prova sostanziale della modulazione nei livelli di BDNF nei pazienti depressi e in particolare in risposta agli antidepressivi.

Il modello di trattamento attuale della depressione suggerisce che l'azione terapeutica a lungo termine degli antidepressivi sia mediata dai bersagli intracellulari che seguono alla stimolazione noradrenergica (NE) e serotoninergica (5-HT). Una via di trasduzione principale, che ha un ruolo di mediazione dell'azione di 5-HT e NE utilizza l'adenosina monofosfato ciclico (cAMP). Alcuni recenti risultati indicano che l'aumento del BDNF, mediante somministrazione di antidepressivi, avviene attraverso la via di trasduzione del segnale cAMP e il fattore di trascrizione CREB (la proteina che lega l'elemento di risposta all'AMP ciclico) (Nibuja et al., 1996; Jensen et al., 2000). Tali risultati, presi insieme, producono una forte evidenza che suggerisce come l'espressione aumentata di BDNF costituisca un effetto di flusso di una neurotrasmissione 5-HT/NE aumentata e come ciò può avere un ruolo in termini di effetto terapeutico degli antidepressivi. Diversi tipi di antidepressivi possono estrinsecare i loro effetti terapeutici attraverso una cronica, ma non acuta, somministrazione. Ciò suggerisce come la regolazione dell'espressione genica attraverso le vie di segnalazione intracellulare, possa essere alla base di alcuni dei loro

meccanismi d'azione. Le vie di segnalazione intracellulare esercitano un'azione modulatoria della funzione neuronale, aumentando la neurogenesi e agendo come mediatori nei mutamenti persistenti a lungo termine che fungono come forma di plasticità neurale farmaco-indotta. La somministrazione cronica di antidepressivi causa dei cambiamenti morfologici nei neuroni e potrebbe spiegare come i farmaci riescano a mediare la plasticità strutturale persistente nel cervello (D'sa e Duman, 2002).

### ***1.5 Implicazioni cliniche e neurobiologiche del BDNF nei disturbi dell'umore: l'esperienza condotta presso il Dipartimento di Psichiatria dell'Università di Pisa.***

Per almeno quattro anni, l'obiettivo degli studi condotti dal gruppo di ricerca del Dipartimento di Psichiatria è stato quello di esaminare le relazioni tra i disturbi affettivi e il BDNF sia dal punto di vista clinico che neurobiologico. Uno studio recente (Piccinni et al., 2008) era volto a esaminare attentamente le possibili relazioni tra i sintomi depressivi e i livelli plasmatici e/o sierici di BDNF nel corso di 1 anno di trattamento antidepressivo. E' stato osservato che i pazienti depressi non trattati, diagnosticati in accordo con il Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (DSM-IV-TR, American Psychiatric Association, 2000), utilizzando il Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI), hanno

mostrato livelli sierici basali e livelli plasmatici di BDNF ridotti, rispetto a soggetti di controllo. Il miglioramento clinico valutato usando la Hamilton Rating Scale for Depression (HDRS; Hamilton, 1960) e la Montgomery–Asberg Depression Rating Scale (MADRS; Montgomery and Asberg, 1979), corrispondeva alla normalizzazione del BDNF plasmatico dopo 1 mese di trattamento, mentre in ogni periodo di valutazione i livelli sierici di BDNF erano più bassi rispetto a quelli osservati nei soggetti di controllo. E' stato ipotizzato che il BDNF sierico possa rappresentare un marker aspecifico di depressione. In un'altra ricerca (Piccinni et al., 2008) si è valutato la possibile presenza di un ritmo diurno della concentrazione plasmatica e sierica di BDNF nei soggetti sani di entrambi i sessi. In un piccolo sottocampione di donne, la misurazione dei livelli plasmatici e sierici diurni di BDNF è stata confrontata in due fasi distinte del ciclo mestruale. A livello statistico è stata riscontrata una variazione diurna importante nei livelli plasmatici di BDNF, con un picco alle ore 08:00 e un nadir alle ore 22:00. In questo orario, la concentrazione plasmatica di BDNF negli uomini era notevolmente inferiore rispetto a quella delle donne. Tuttavia, non è stata riscontrata alcuna variazione diurna sia nel livello plasmatico di BDFN delle donne, nella fase follicolare e luteale del ciclo mestruale, sia nei livelli sierici di BDNF di entrambi i sessi. Si è giunti alla conclusione che tali risultati possono supportare il concetto di

una variazione ritmica nella regolazione del livello plasmatici di BDNF che sembra essere legata al genere.

Recentemente è stato condotto uno studio finalizzato a valutare se il decorso clinico dei pazienti depressi resistenti al trattamento farmacologico in seguito a un ciclo di terapia elettroconvulsivante (ECT) potesse essere associato a cambiamenti nelle concentrazioni plasmatiche di BDNF (Piccinni et al., 2009). I risultati hanno dimostrato che a  $t_0$  (*basale*) i livelli plasmatici di BDNF dei pazienti erano notevolmente inferiori rispetto a quelli dei soggetti di controllo e che a  $t_2$  (*dopo l'ECT*) erano aumentati in maniera rilevante parallelamente a una riduzione del punteggio totale della scala HAM-D. Tuttavia, solo i pazienti *remitters* che hanno mostrato livelli basali di BDNF plasmatico più alti rispetto ai *non-remitters* hanno raggiunto una normalizzazione dei livelli di BDNF in seguito a ECT. Tali risultati suggerirebbero la potenziale attività dei livelli plasmatici basali quali elementi predittori della risposta all'ECT nel trattamento di pazienti depressi resistenti al trattamento.

Recentemente, è stato perseguito l'obiettivo di studiare la relazione tra gli eventi stressanti traumatici e il BDNF nei pazienti che soffrono di Disturbi post-traumatici da stress (PTSD). Sono stati reclutati 14 partecipanti diagnosticati clinicamente con PTSD che sono stati confrontati con 14 soggetti di controllo in termini di livelli plasmatici di BDNF e di sintomatologia correlata alla PTSD. I risultati hanno indicato che i pazienti

con PTSD presentavano livelli notevolmente inferiori di BDNF rispetto ai soggetti di controllo; inoltre, i soggetti che avevano vissuto altri tipi di trauma diversi dal lutto complicato (o lutto traumatico) e pazienti che avevano vissuto più eventi traumatici nel corso della vita mostravano livelli plasmatici di BDNF più bassi rispetto ai soggetti di controllo. Il tempo trascorso in seguito al trauma e le altre caratteristiche che connotano la sintomatologia della PTSD come ad es., il numero di sintomi di intrusione e di evitamento, non sembravano essere correlati ai livelli di BDNF. I risultati suggeriscono che una riduzione nei livelli di BDNF possa essere implicata nella neurobiologia della PTSD, ma si rendono necessari ulteriori studi prospettici per confermare tale osservazione (Dell'Osso et al., 2009).

La dimensione dell'attaccamento, che può essere correlata allo sviluppo dei disturbi affettivi, è stata l'oggetto di un altro studio inerente i livelli di BDNF. In questo studio sono stati coinvolti 24 volontari sani. L'attaccamento romantico era stato valutato sulla base della versione italiana del questionario "Experiences in Close Relationship" (ECR). Le donne hanno mostrato un punteggio più alto nella scala dell'Ansia nell'ECR rispetto agli uomini, come anche una correlazione rilevante e negativa tra la scala dell'Evitamento nell'ECR e i livelli plasmatici di BDNF. Sempre nelle donne, sono state osservate correlazioni importanti e negative tra i livelli di BDNF ed i seguenti item dell'ECR: item #1 ("Preferisco non mostrare al partner come mi sento dentro") e #13 ("Mi

innervosisco quando il partner diventa troppo intimo”); al contrario, sono state riscontrate correlazioni positive con l’item #20 (“A volte ho l’impressione di forzare il partner a mostrare più sentimenti e maggiore dedizione”), #31 (“ Non mi crea problemi chiedere conforto, consiglio o aiuto al partner”) e #33 (“Mi è di aiuto rivolgermi al mio partner nei momenti di bisogno”). Gli uomini hanno mostrato unicamente correlazioni negative con l’item #6 (“Temo che il partner non tenga a me quanto io tengo a lui/lei”) dell’ECR. Sulla base di queste osservazioni, i livelli plasmatici di BDNF e l’attaccamento romantico sembrano essere correlati, ma in maniera diversa nei due sessi. Il BDNF avrebbe un ruolo nel promuovere le relazioni sociali attraverso un effetto specifico che comporta la riduzione dell’evitamento e della paura dell’altro, riducendo altresì le risposte allo stress sociale principalmente nelle donne, e forse, attraverso interazioni ormonali e genotipiche (Marazziti et al., 2009).

Infine, recentemente è stato condotto uno studio finalizzato ad analizzare i livelli plasmatici di BDNF nei pazienti affetti da depressione unipolare e bipolare e ad esplorare la possibile relazione tra il parametro biologico e le caratteristiche cliniche nei soggetti con depressione unipolare versus bipolare. Rispetto ai soggetti di controllo sani, le concentrazioni plasmatiche di BDNF erano notevolmente ridotte sia nei pazienti unipolari che in quelli bipolari senza differenze significative tra di essi. I risultati ottenuti hanno rivelato correlazioni importanti e negative nel campione

totale tra i livelli di BDNF e i punteggi totali della scala HAM-D, e tra i punteggi del fattore di ritardo mentale e quelli della scala CGI “gravità della malattia”. Quando la stessa analisi veniva ripetuta in ogni gruppo separatamente, i risultati precedenti venivano confermati solo nei pazienti affetti da depressione bipolare. In conclusione, i risultati mostrano che livelli ridotti di BDNF possono essere legati sia alla gravità della depressione che alla sintomatologia del ritardo nella depressione bipolare. Si rendono necessari ulteriori studi finalizzati a verificare se e come i livelli di BDNF possano essere associati a qualsiasi dimensione psicopatologica dello stato depressivo ed essere usati quali marker biologici al fine di differenziare la depressione bipolare da quella unipolare. (Dell’Osso et al., sottoposti al *Giornale Italiano di Psicopatologia*)

## **Cap.2: Scopo dello studio**

Alla luce della scarsa disponibilità di informazioni e delle controversie in merito alla relazione tra i livelli di BDNF e le caratteristiche cliniche della depressione, l'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare i livelli di BDNF in pazienti depressi, ben caratterizzati dal punto di vista clinico, al fine di esplorare le possibili relazioni tra i livelli del fattore neurotrofico e le caratteristiche e i sintomi della malattia. In precedenza, alcuni studi hanno correlato le variazioni dei livelli di BDNF nella depressione ad alcune caratteristiche cliniche, quali la gravità della sintomatologia (Shimizu et al., 2003) o la presenza di sintomi psicotici (Lee et al., 2007). Tuttavia, i risultati ottenuti dai diversi studi non sono facilmente confrontabili, in quanto il BDNF è stato valutato o nel plasma o nel siero e i campioni di pazienti risultavano eterogenei.

Nel presente studio sono state indagate le possibili correlazioni tra i livelli plasmatici di BDNF e le caratteristiche demografiche e cliniche del campione, come: l'età, il genere, la presenza di sintomi psicotici e dissociativi, l'età di esordio, la gravità dei sintomi affettivi, il numero degli episodi e i fattori della Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D<sub>21</sub>), questi ultimi valutati singolarmente (ansia/ somatizzazione, peso corporeo,

disturbi della sfera cognitiva, variazioni diurne, rallentamento, disturbi del sonno).

Infine, sono state indagate eventuali differenze di genere per quanto riguarda le caratteristiche socio-demografiche, le variabili cliniche e i valori plasmatici di BDNF.

## Cap.3: Materiali e metodi

### *3.1 Soggetti reclutati*

Sono stati reclutati nello studio 36 pazienti (22 donne e 14 uomini, di età compresa fra 22 e 68 anni, media  $\pm$  Dev.Stand.: 46,36  $\pm$  14,29 anni) afferenti ai reparti di degenza ed agli ambulatori del Dipartimento di Psichiatria, Neurobiologia, Farmacologia e Biotecnologie dell'Università di Pisa. Tutti i pazienti, erano affetti da Episodio Depressivo Maggiore (EDM) in accordo ai criteri del Manuale Diagnostico e Statistico dei disturbi Mentali (DSM-IV-TR) (APA, 2000): 7 pazienti erano al primo episodio di malattia mentre gli altri 29 presentavano un decorso del disturbo depressivo di tipo ricorrente. La diagnosi è stata confermata mediante la somministrazione del Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.) (Sheehan et al., 1998). I criteri di esclusione dallo studio includevano: presenza di disturbi organici cerebrali, abuso di sostanze, gravidanza, malattie fisiche croniche gravi.

I pazienti al primo episodio (n=7) non avevano trattamenti farmacologici in atto; i pazienti con decorso ricorrente (n=29), erano drug-free da almeno 1 anno.

Nessuna donna assumeva farmaci anticoncezionali e 7 donne erano in menopausa. In tutte le donne fertili il sangue è stato prelevato a metà della fase follicolare del ciclo mestruale.

Da tutti i pazienti è stato ottenuto un consenso informato scritto per l'adesione allo studio, approvato dal Comitato Etico dell'Università di Pisa e in accordo con la Dichiarazione di Helsinki (1996) e con le linee guida del Good Clinical Practice (1995).

### ***3.2 Valutazione clinica***

La diagnosi di Disturbo Depressivo Maggiore è stata confermata tramite la somministrazione del M.I.N.I. versione 5.1 (Sheehan et al., 1998). Il MINI è una breve intervista strutturata ideata per identificare, in modo semplice e rapido, i principali disturbi psichiatrici dell'Asse I secondo i criteri del DSM-IV e dell'ICD-10. Confrontato ad interviste diagnostiche molto più ampie e complesse (SCID-P, CIDI) il MINI ha ottenuto elevati punteggi di validità e affidabilità (Lecrubier et al., 1997) pur richiedendo per la sua applicazione meno di un terzo del tempo rispetto alle altre interviste. L'intervista è divisa in moduli, ciascuno dei quali corrisponde ad una categoria diagnostica (16 in tutto di cui 3 opzionali oltre alla valutazione del rischio di suicidio). Alla fine della somministrazione delle domande di un determinato modulo, il clinico è in grado di determinare se i criteri per quella categoria sono stati o meno soddisfatti.

La gravità della depressione è stata valutata per mezzo della somma dei punteggi dei primi 21 items della Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D<sub>21</sub>) (Hamilton M, 1960) e del punteggio dell'item "gravità della malattia" della Clinical Global Impressions (CGI) (Guy W., 1976).

L'HAM-D è composta da 21 items; di questi, il n° 16, Perdita di peso, è suddiviso in due sub-items mutuamente esclusivi che esplorano il primo la perdita di peso riferita, l'altro quella misurata con la bilancia; anche l'item n° 18, Variazioni diurne, è suddiviso in due sub-items, il primo che esplora la presenza di variazioni diurne della sintomatologia ed il senso verso il quale vanno le eventuali variazioni (peggioramento mattutino o serale), l'altro la gravità delle eventuali variazioni. Generalmente i primi 17 items sono considerati quelli nucleari della depressione ed è su questi che di solito viene definito il cut-off di gravità che può essere così schematizzato:

>25 depressione grave

18-24 depressione moderata

8-17 depressione lieve

<7 assenza di depressione.

La HAM-D è adatta per pazienti adulti con sintomatologia depressiva di qualsiasi tipo. La scala è utilizzabile nella valutazione delle variazioni della sintomatologia sotto trattamento e può essere impiegata, perciò, nella fase precedente e in quella successiva alla terapia.

La CGI è stata sviluppata per uno studio di vaste dimensioni sulla schizofrenia (PRB Collaborative Schizophrenia Studies). Ha lo scopo di valutare il rapporto rischio/beneficio (cioè l'efficacia) del trattamento in pazienti psichiatrici. È applicata dallo psichiatra il quale valuta ripetutamente, nel corso del trattamento, la gravità della malattia, le sue variazioni nel tempo e l'efficacia terapeutica, cioè il rapporto fra effetto terapeutico ed effetti indesiderati. La CGI è una scala "universale" che può essere impiegata per tutte le categorie di pazienti. La CGI consiste di 3 items : i primi due sono valutati su una scala a 7 punti, oltre alla risposta "Non è stato valutato"; il terzo, l'Indice di Efficacia, è una matrice simmetrica (4x4), che prevede 16 possibili risposte in rapporto alla diversa combinazione dell'ET e degli EC (più la risposta "Non valutato"). Ciascun item è valutato separatamente. Non esiste un punteggio totale. Il periodo da prendere in considerazione è, per la Gravità della Malattia, la settimana precedente, per il Miglioramento Globale e per l'Indice di Efficacia, invece, il tempo trascorso dall'inizio del trattamento. La scala è adatta per la valutazione del decorso clinico; la Gravità della Malattia deve essere valutata nel pre-trattamento e almeno una volta nel post-trattamento; il Miglioramento Globale e l'Indice di Efficacia non devono essere valutati nel pre-trattamento e devono esserlo, invece, almeno alla fine del trattamento. Sono possibili (e consigliabili) valutazioni intermedie a discrezione del clinico.

Nel nostro studio i pazienti hanno riportato un punteggio totale HAM-D di  $24,67 \pm 6,59$  e un punteggio CGI di  $4,81 \pm 0,86$ .

### ***3.3 Analisi del BDNF***

Tra le 08:00 e le 09:00 del mattino, in seguito a digiuno notturno, sono stati raccolti 10 ml di sangue venoso in provette contenenti EDTA. I campioni sono stati trasportati in ghiaccio, centrifugati per 10 minuti a  $2000 \times g$  a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e conservati a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Dopo acidificazione e successiva neutralizzazione dei campioni, il dosaggio del BDNF è stato effettuato mediante un apposito kit ELISA in base alle istruzioni del produttore (Promega, Wallisellen, Switzerland). Sono state sensibilizzate 96 piastre con anticorpo monoclonale anti-BDNF e incubate a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  per 18 ore. Le piastre sono state poi incubate in una soluzione di bloccaggio per 1 ora a temperatura ambiente, poi sono stati aggiunti i campioni. Le piastre sono state in seguito incubate con un anticorpo policlonale anti-BDNF umano a temperatura ambiente per 2 ore, lavate e incubate con anticorpo anti-IgG coniugato con perossidasi di rafano per 1 ora a temperatura ambiente. Sono stati quindi aggiunti un substrato della perossidasi e una soluzione di tetrametilbenzidina al fine di ottenere una reazione cromatica. La reazione è stata poi arrestata con 1 M HCl. L'assorbanza è stata letta a 450 nm per determinare i valori di BDNF (espressi in pg/ml).

### ***3.4 Analisi statistiche***

Per il confronto delle variabili quantitative non distribuite in modo normale, quali ad es. il livello del BDNF i punteggi dei fattori e del totale della HAM-D, è stato utilizzato il test non parametrico di Mann-Whitney. Per le variabili a distribuzione normale è stato invece utilizzato il t-test di Student.

Analogamente, per analizzare le relazioni fra le variabili non gaussiane è stato calcolato il coefficiente di correlazione di Spearman.

Una probabilità di errore di tipo I  $p < 0,05$  è stata considerata statisticamente significativa.

Tutte le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il pacchetto software SPSS versione 14.0.

## Cap.4: Risultati

La Tabella 1 mostra le caratteristiche demografiche e cliniche ed i livelli plasmatici del BDNF del campione.

**Tabella 1 - Caratteristiche demografiche e cliniche del campione**

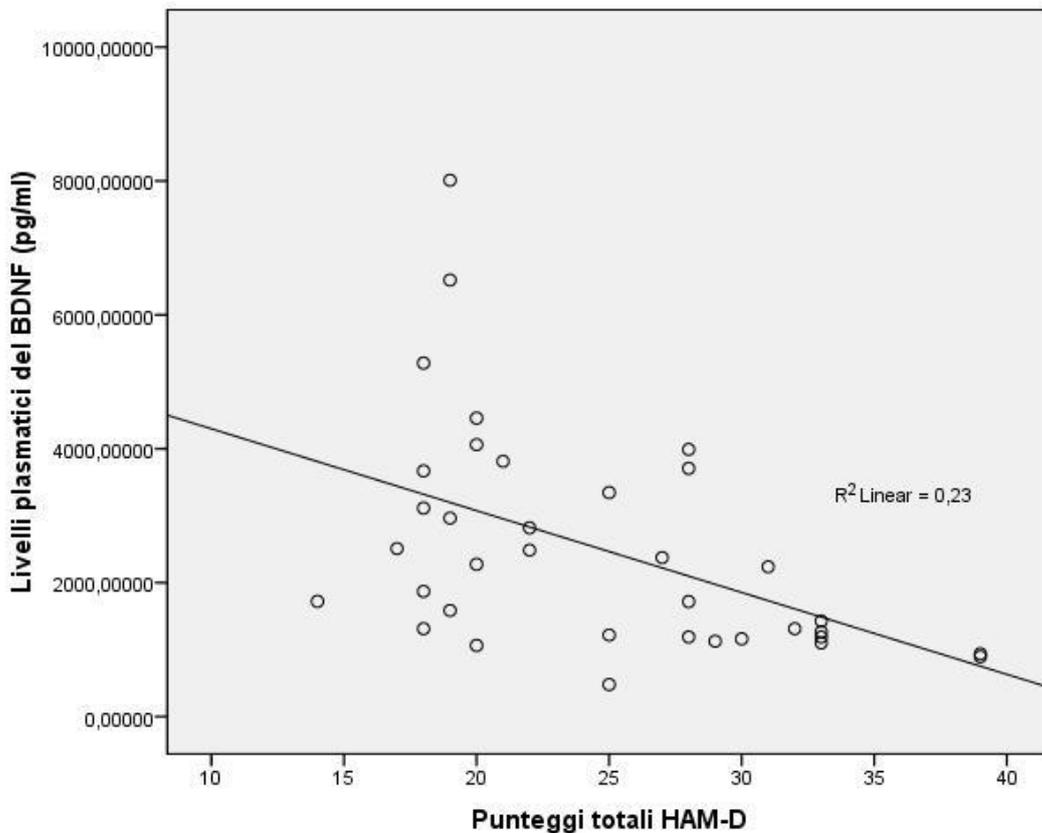
<i>Variabili quantitative</i>	<i>n</i>	<i>Media ± Dev. standard</i>
Età (anni)	36	46,36 ± 14,29
Età di esordio (anni)	36	30,97 ± 14,25
Punteggio totale HAM-D	36	24,67 ± 6,59
HAM-D (punteggi fattoriali)	36	
<i>Ansia/Somatizzazione</i>		1,32 ± 0,37
<i>Peso</i>		0,56 ± 0,77
<i>Disturbi cognitivi</i>		0,84 ± 0,55
<i>Variazione diurna</i>		0,54 ± 0,66
<i>Rallentamento</i>		1,92 ± 0,81
<i>Disturbi del sonno</i>		0,76 ± 0,46
CGI (gravità della malattia)	36	4,81 ± 0,86
Livelli plasmatici del BDNF (pg/ml)	36	2505,57 ± 1679,27

<i>Variabili categoriali</i>	<i>n</i>	<i>(%)</i>
Genere		
<i>Maschile</i>	14	38,9
<i>Femminile</i>	22	61,1
Psicosi:		
<i>assenza</i>	23	63,9
<i>presenza</i>	13	36,1
Gravità della malattia (CGI)		
<i>Moderatamente ammalati (punt.=4)</i>	17	47,2
<i>Gravem. o notev. ammalati (punt.=5 o 6)</i>	19	52,8

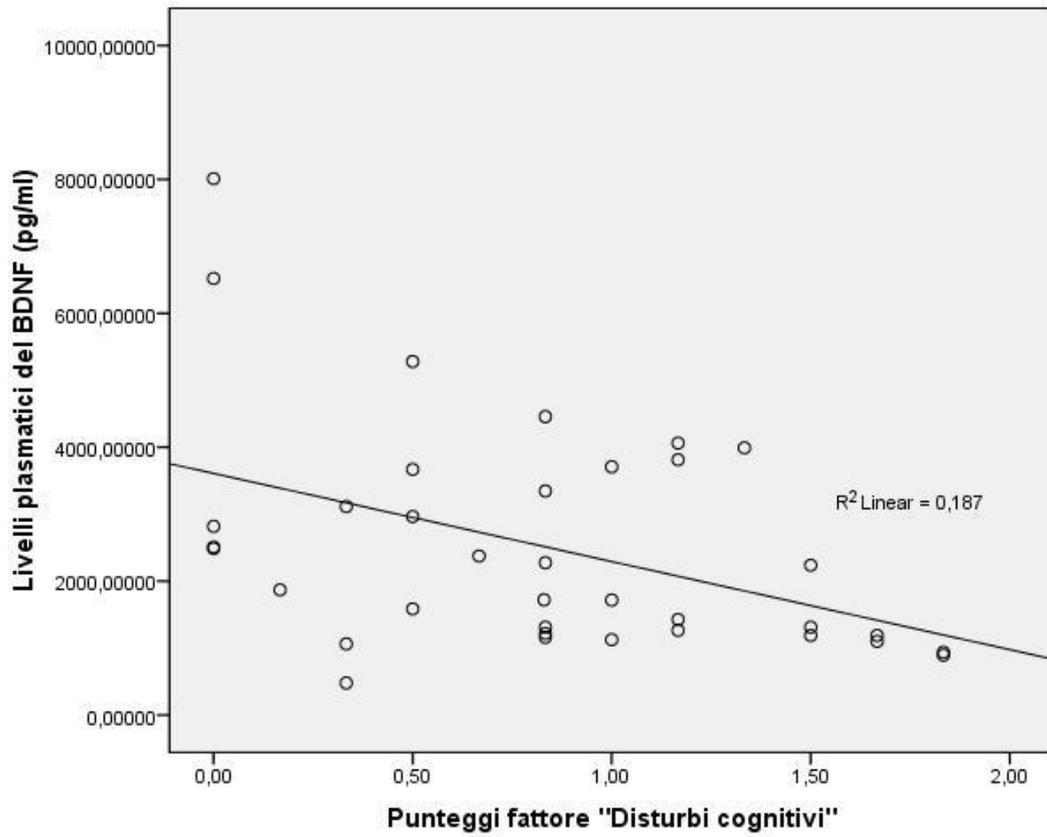
Nel confronto di genere non sono state riscontrate differenze significative né per l'età dei pazienti, né per i livelli plasmatici di BDNF, né per il punteggio totale e i punteggi fattoriali della HAM-D.

Si è potuto osservare che il livello del BDNF correla negativamente ed in modo significativo col punteggio totale ( $r_s = -0,549$ ,  $p = 0,001$ ) e con i punteggi dei fattori "Disturbi cognitivi" ( $r_s = -0,402$ ,  $p = 0,015$ ) e "Rallentamento" ( $r_s = -0,492$ ,  $p = 0,002$ ) della HAM-D (vedi diagrammi di dispersione delle fig.1, fig.2 e fig.3).

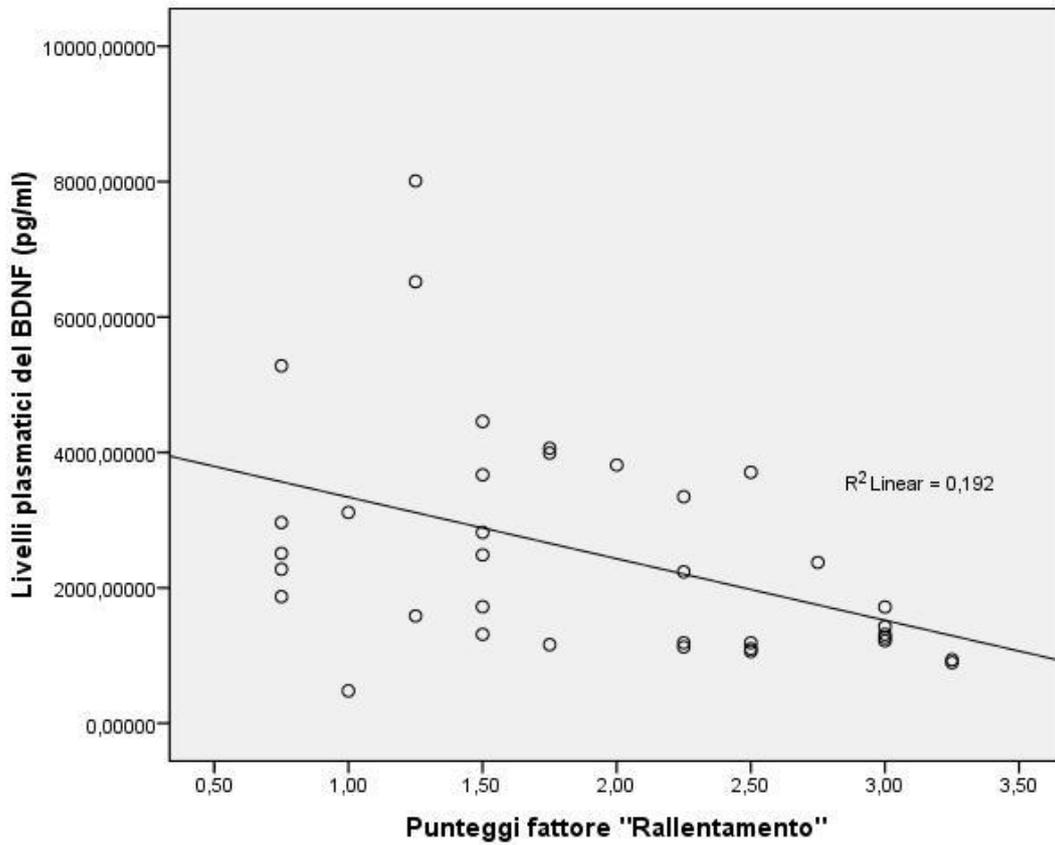
**Figura 1 - Relazione fra punteggi totale HAM-D e livelli plasmatici BDNF**



**Figura 2 - Relazione fra punteggi del fattore “Disturbi cognitivi” della HAM-D e livelli plasmatici del BDNF**



**Figura 3 - Relazione fra punteggi del fattore “rallentamento” della HAM-D e livelli plasmatici del BDNF**



Relativamente al fattore “Disturbi del sonno” della HAM-D, suddividendo il campione sulla base del 75° percentile (valore = 1.00), abbiamo osservato che i pazienti (n=8) con i punteggi fattoriali più alti avevano un livello di BDNF significativamente più basso dei pazienti con punteggi fattoriali più bassi ( $1251,67 \pm 577,25$  vs  $2864,12 \pm 1723,13$ ;  $Z = -2,990$ ;  $p = 0,003$ ) (vedi Tabella 2).

**Tabella 2 - Livelli plasmatici del BDNF e caratteristiche cliniche dei pazienti**

<i>Gruppi a confronto</i>	<i>n</i>	<i>Livelli BDNF (media ± dev. stand.)</i>	<i>Mann-Whitney (Z)</i>	<i>p</i>
Gravità della malattia (CGI)				
<i>Moderatamente ammalati (punt.=4)</i>	17	2997,67 ± 1541,20	- 2,424	0,015
<i>Gravem. o notev. ammalati (punt.=5 o 6)</i>	19	2065,27 ± 1714,21		
Fattore HAM-D “Dist. Del sonno”:				
<i>Bassi punteggi</i>	28	2864.12 ± 1723,13	- 2,990	0,003
<i>Alti punteggi</i>	8	1251.67 ± 577,25		
Item HAM-D “Depersonal./derealizzazione”				
<i>Assenza disturbo</i>	20	3104,85 ± 1884,43	-2,690	0,007
<i>Presenza disturbo</i>	16	1756,48 ± 1002.22		
Episodi:				
<i>Singoli</i>	7	4573,71 ± 2199,25	- 2.489	0,002
<i>Ricorrenti</i>	29	2006,61 ± 1111.94		

Abbiamo osservato che i pazienti con sintomi dissociativi (n=16) avevano livelli di BDNF significativamente più bassi rispetto ai pazienti che non li presentavano ( $1756,48 \pm 1002,22$  vs  $3104,85 \pm 1884,43$  ;  $Z=-2,690$  ;  $p=0.007$ ) (vedi Tabella 2).

Sulla base dell’item “gravità della malattia” della CGI, i livelli di BDNF differivano significativamente fra il gruppo dei “moderatamente ammalati” con punteggio 4 (n=17 ;  $2997,67 \pm 1541,20$ ) e quello dei “gravemente o notevolmente ammalati” ottenuto unendo i soggetti con punteggio 5 e punteggio 6 (n=19 ;  $2065,27 \pm 1714,21$ ) ( $Z=-2,424$  ;  $p=0,015$ ) (vedi Tabella 2).

Inoltre i 29 pazienti con episodi ricorrenti di depressione hanno mostrato livelli di BDNF significativamente più bassi dei 7 al primo episodio ( $2006,61 \pm 1111,94$  vs  $4573,71 \pm 2199,25$ ,  $Z=-3,058$ ,  $p=0,002$ ) (vedi Tabella 2).

Infine, non è stata osservata alcuna relazione dei livelli BDNF né con la presenza-assenza di sintomi psicotici né con l'età di esordio della depressione maggiore.

## **Cap.5: Discussione e conclusioni**

Il presente studio ha prodotto diversi risultati meritevoli di approfondimento. In primo luogo, abbiamo riscontrato una correlazione negativa significativa tra la gravità della malattia, valutata sulla base del punteggio totale della scala HAM-D, e i livelli plasmatici di BDNF. Questo ci permette di affermare che quanto più il paziente è grave tanto più bassi sono i livelli periferici della neurotrofina. Tale riscontro è in accordo con i risultati di studi precedenti su pazienti depressi non sottoposti a trattamento (Shimizu et al., 2003; Gonul et al., 2005), ma non con lo studio di Lee e coll. del 2007.

Il legame tra deficit di BDNF e gravità della sintomatologia depressiva è supportato inoltre dalla nostra osservazione secondo cui i livelli plasmatici dei pazienti “gravemente malati”, sulla base della CGI, sono risultati notevolmente più bassi rispetto ai livelli riscontrati nei pazienti “moderatamente malati”.

Nonostante molteplici evidenze suggeriscano il ruolo importante del BDNF nella patofisiologia dei disturbi dell’umore e nella risposta al trattamento antidepressivo (Shimizu et al., 2003; Aydemir et al., 2005; Gervasoni et al., 2005; Gonul et al., 2005; Lee et al., 2007; Marano et al., 2007; Huang et al., 2008; Piccinni et al., 2008; Matrisciano et al., 2009;

Piccinni et al., 2009) esistono in letteratura dati contrastanti su tale argomento. Ad esempio, uno studio recente condotto su pazienti depressi ha dimostrato che non vi sono differenze significative tra le concentrazioni periferiche di BDNF prima e dopo il trattamento farmacologico antidepressivo (Yoshimura et al., 2007). Inoltre, un argomento oggetto di dibattito nella comunità scientifica riguarda la misura in cui i livelli periferici di BDNF riflettano le reali concentrazioni cerebrali. Gli studi sulla relazione tra i livelli cerebrali e quelli ematici di BDNF, così come gli studi sulla captazione di BDNF o sul trasporto attraverso la barriera ematoencefalica, infatti, hanno portato a conclusioni eterogenee e contrastanti (Karege et al., 2002; Elfving et al., 2009). Esiste pertanto la necessità di ulteriori dati che supportino l'esistenza di un sistema di trasporto attivo finalizzato al passaggio della neurotrofina attraverso la barriera ematoencefalica (Sen et al., 2008).

In secondo luogo, il nostro studio ha rilevato una correlazione negativa statisticamente significativa tra i punteggi dei fattori "Rallentamento" e "Disturbi cognitivi" della scala HAM-D e i livelli di BDNF. Tale risultato appare, a nostro avviso, molto interessante in quanto il rallentamento psicomotorio viene considerato uno tra i sintomi nucleari della depressione ed è stato generalmente messo in relazione con la gravità della malattia (Benazzi F., 2002) o con le manifestazioni melanconiche (Parker G., 2000). Da un punto di vista neurobiologico, è stato dimostrato

che alcuni fenotipi di pazienti depressi, inclusi quelli melanconici, sono caratterizzati da una disregolazione più accentuata dell'asse ipotalamo-iposifi-surrene (HPA) rispetto ad altri (Pintor et al., 2007; Pintor et al., 2009). L'effetto degli ormoni corticosteroidi sull'espressione del BDNF è stata dimostrata in studi pre-clinici che hanno documentato come il cortisolo possa indurre una down-regulation della sintesi del BDNF nel sistema nervoso centrale (Schaff et al., 2000).

La relazione negativa tra i livelli di neurotrofina e il punteggio del fattore "Disturbi cognitivi" della HAM-D conferma l'importanza del ruolo del BDNF nel sostenere le funzioni cognitive. E' ormai riconosciuta l'azione positiva del BDNF sulla plasticità sinaptica, sulla trasmissione glutamatergica e sulla Long Term Potentiation (LTP) sinaptica, tutti processi fondamentali per l'apprendimento e le funzioni mnestiche. D'altra parte, dati sempre più consistenti supportano un coinvolgimento del deficit di BDNF nelle patologie cerebrali caratterizzate da progressivo deterioramento cognitivo, prima fra tutte la Malattia di Alzheimer: studi post-mortem hanno rilevato una riduzione del BDNF corticale e ippocampale (Peng e coll., 2005; Connor e coll., 1997), mentre studi sul siero hanno evidenziato una variazione dei suoi livelli nel corso del disturbo, con tendenza all'aumento nella fase iniziale e progressivo decremento nella fase avanzata (Laske e coll., 2006).

Sono stati riscontrati, inoltre, livelli plasmatici di BDNF più bassi nei pazienti con disturbi del sonno più gravi. La relazione tra i disturbi del sonno e la depressione è ben conosciuta: all'incirca tre quarti dei pazienti depressi lamentano insonnia che comporta sofferenza soggettiva, compromissione della qualità della vita e rappresenta un forte fattore di rischio per suicidio e recidive (Nutt et al., 2008). Inoltre, un overdrive dell'asse HPA, come osservato specialmente nei pazienti depressi con caratteristiche melanconiche, sembra collegato alla disregolazione del sonno (Antonijevic I., 2008). È interessante notare come uno studio condotto sui ratti suggerisca un legame tra la plasticità sinaptica e l'omeostasi del sonno, identificando il BDNF quale mediatore principale di tale relazione a livello molecolare (Huber et al., 2007).

Sono state altresì riscontrate concentrazioni più basse di BDNF nei pazienti con sintomi di depersonalizzazione/derealizzazione: tale evidenza è coerente con un risultato simile ottenuto in uno studio su pazienti affetti da burn-out, una sindrome caratterizzata da stress cronico (Onen Sertoz et al., 2008). Questo riscontro può rappresentare un altro indicatore della relazione tra il BDNF e i circuiti dello stress, in quanto una disregolazione dell'asse HPA è stata documentata nei pazienti con depersonalizzazione (Simeon et al., 2001).

Inoltre, in linea con uno studio precedente (Lee et al., 2007), i nostri dati hanno dimostrato livelli più bassi di BDNF nei i pazienti con episodi

depressivi ricorrenti e quindi con una storia di malattia più lunga. Tuttavia, va sottolineato che nel nostro campione i pazienti al primo episodio sono meno numerosi rispetto a quelli con depressione ricorrente. Ciò implica che i risultati dell'analisi statistica possono anche non essere totalmente affidabili.

Questo studio presenta, comunque, molteplici limitazioni. Innanzitutto, è necessario considerare la scarsa numerosità del campione e la prevalenza significativa del genere femminile.

Un'altra problematica è legata alla misura in cui i livelli ematici di BDNF possano riflettere le concentrazioni di BDNF a livello cerebrale. Abbiamo scelto di esaminare il BDNF plasmatico, in quanto la concentrazione di BDNF nel plasma povero di piastrine sembra essere solo minimamente influenzata dalla quantità di BDNF immagazzinata nelle piastrine e, di conseguenza, può rappresentare un marker più sensibile e affidabile delle variazioni di BDNF che si verificano nel cervello e a livello periferico (Lommatzsch et al., 2005). Di contro, la concentrazione nel siero risente in modo pesante e variabile della quota di BDNF rilasciato dalle piastrine attivate durante il processo di sierazione. Ciononostante, il BDNF plasmatico ha mostrato un'alta variabilità interindividuale. Merita inoltre di essere menzionato che i valori plasmatici assoluti di BDNF che abbiamo rilevato erano più alti rispetto a quelli osservati nelle recenti pubblicazioni (Lommatzsch et al., 2005; Begliuomini et al., 2008).

Tuttavia, come riportato in precedenza (Piccinni et al., 2008), abbiamo analizzato il BDNF plasmatico totale dopo acidificazione e neutralizzazione dei campioni, mentre gli altri Autori potrebbero avere misurato la quantità della forma matura libera. A nostro avviso quindi, le diverse procedure metodologiche possono contribuire a spiegare l'esistenza di dati controversi in Letteratura (Karege et al., 2005; Palomino et al., 2006).

L'uso di farmaci antidepressivi è sempre stato considerato un bias nelle misurazioni dei livelli di BDNF nei disturbi dell'umore (de Oliveira et al., 2009) anche se uno studio recente ha rilevato che pazienti eutimici unipolari o bipolari in trattamento farmacologico presentavano livelli sierici ridotti di BDNF rispetto a controlli sani ma sovrapponibili a pazienti non trattati (Monteleone et al., 2008). Nel nostro studio, tuttavia, i pazienti al primo episodio erano drug-free, mentre gli altri pazienti con decorso ricorrente avevano sospeso i trattamenti da almeno un anno.

Per concludere, i nostri risultati hanno evidenziato che livelli ridotti di BDNF possono essere associati alla gravità e all'andamento ricorrente della depressione, come anche ai sintomi che suggeriscono la disregolazione dell'asse HPA. Si rende necessario quindi condurre ulteriori studi per indagare accuratamente la relazione tra i livelli periferici di BDNF e i clusters sintomatologici o le dimensioni psicopatologiche che interessano trasversalmente molteplici condizioni neuropsichiatriche.

## **Bibliografia**

- Akiskal HS, Walker P, Puzantian VR, King D, Rosenthal TL, Dranon M  
Bipolar outcome in the course of depressive illness. Phenomenologic,  
familial, and pharmacologic predictors. *J Affect Disord* 1983; 5:115–28.
- Akiskal HS Developmental pathways to bipolarity: Are juvenile-onset  
depression pre-bipolar? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1995;  
34:754–763.
- Akiskal HS Searching for behavioral indicators of bipolar II in patients  
presenting with major depressive episodes: the “red sign,” the “rule of  
three” and other biographic signs of temperamental extravagance,  
activation and hypomania. *J Affect Disord* 2005; 84:279–90.
- Alexopoulos GS, Katz IR, Reynolds CF, Carpenter D, Docherty JP, Ross  
RW Pharmacotherapy of depression in older patients: A summary of the  
expert consensus guidelines. *J Psychiatr Pract* 2001; 7:361–376.
- Altman J, Das GD Autoradiographic and histological evidence of postnatal  
hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965; 124:319-335.
- Altshuler LL, Casanova MF, Goldberg TE, Kleinman JE The hippocampus  
and parahippocampus in schizophrenia, suicide, and control brains. *Arch  
Gen Psychiatry* 1990; 47:1029–1034.
- Altshuler LL, Post RM, Leverich GS, Mikalauskas K, Rosoff A, Ackerman  
L Antidepressant-induced mania and cycle acceleration: a controversy  
revisited. *Am J Psychiatry* 1995; 152:1130–1138.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of  
mental disorders, Text Revision, 4th ed. American Psychiatric Press,  
Washington DC, 2000.
- Antonićević I HPA axis and sleep: identifying subtypes of major  
depression. *Stress* 2008; 11:15-27.
- Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB The role of  
corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J  
Endocrinol* 1999; 160(1):1-12.

- Aydemir O, Deveci A, Taneli F The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29:261–265.
- Barbany G, Persson H Regulation of Neurotrophin mRNA Expression in the Rat Brain by glucocorticoids. *Eur J Neurosci* 1992; 4:396–403.
- Begliomini S, Lenzi E, Ninni F, Casarosa E, Merlini S, Pluchino N, Valentino V, Luisi S, Luisi M, Genazzani AR Plasma brain-derived neurotrophic factor daily variations in men: correlation with cortisol circadian rhythm. *J Endocrinol* 2008; 197:429–435.
- Benazzi F, Koukopoulos A, Akiskal HS Toward a validation of a new definition of agitated depression as a bipolar mixed state (mixed depression). *Eur Psychiatry* 2004; 19:85–90.
- Benazzi F Clinical differences between bipolar II depression and unipolar major depressive disorder: lack of an effect of age. *J Affect Disord* 2003; 75:191–195.
- Benazzi F Diagnosis of bipolar II disorder: a comparison of structured versus semistructured interviews. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27:985–991.
- Benazzi F Prevalence of bipolar II disorder in atypical depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1999; 249:62–65.
- Benazzi F Psychomotor changes in melancholic and atypical depression: 1976 unipolar and bipolar-II subtypes. *Psychiatry Res* 2002; 112:211–20.
- Bland RC Epidemiology of affective disorders: a review. *Can J Psychiatry* 1997; 42:367–77.
- Blazer DG Mood disorders: epidemiology, in *Comprehensive Textbook of Psychiatry*, Sadock BJ, Sadock VA, editor Lippincott. Williams & Wilkins: New York; 2000: 1298–1308.
- Bocchio-Chiavetto L, Zanardini R, Bortolomasi M et al. Electroconvulsive Therapy (ECT) increases serum Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in drug resistant depressed patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006; 16:620–624.

- Bostwick JM, Pankratz VS Affective disorders and suicide risk: a reexamination. *Am J Psychiatry* 2000; 157:1925–1932.
- Bowden CL, Krishnan AA Pharmacotherapy for bipolar depression: An economic assessment. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5:1101–1107.
- Brunoni AR, Lopes M, Fregni F A systematic review and meta-analysis of clinical studies on depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11:1169–1180.
- Chao HM, Sakai RR, Ma LY, McEwen BS Adrenal steroid regulation of neurotrophic factor expression in the rat hippocampus. *Endocrinology* 1998; 139:3112–3118.
- Charney DS, Nelson JC Delusional and nondelusional unipolar depression: Further evidence for distinct subtypes. *Am J Psychiatry* 1981; 138:328–333.
- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 2001; 50:260–265.
- Chun BJ, Dunner DL A review of antidepressant-induced hypomania in major depression: suggestions for DSM-V. *Bipolar Disord* 2004; 6:32–42.
- Coffey CE, Wilkinson WE, Weiner RD, Parashos IA, Djang WT, Webb MC, Figiel GS, Spritzer CE Quantitative cerebral anatomy in depression. A controlled magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 1993; 50:7-16.
- Cohen A, Houck P, Szanto K, Dew M, Gilman S, Reynolds C Social inequalities in response to antidepressant treatment in older adults. *Arch Gen Psychiatry* 2006; 63:50-56.
- Connor B, Young D, Yan Q, Faull RL, Synek B, Dragunov M Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Mol Brain Res* 1997; 49:71–81.
- Cotter D, Mackay D, Chana G, Beasley C, Landau S, Everall IP Reduced neuronal size and glial cell density in area 9 of the dorsolateral prefrontal

- cortex in subjects with major depressive disorder. *Cereb Cortex* 2002; 12:386–394.
- Cotter D, Mackay D, Landau S, Kerwin R, Everall I Reduced glial cell density and neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2001; 58:545–553.
- De Oliveira GS, Ceresér KM, Fernandes BS, Kauer-Sant'anna M, Fries GR, Stertz L, Aguiar B, Pfaffenseller B, Kapczinski F Decreased brain-derived neurotrophic factor in medicated and drug-free bipolar patients. *J Psychiatr Res* 2009; 43(14):1171-4.
- De Battista C, Mueller K Is electroconvulsive therapy effective for the depressed patient with comorbid borderline personality disorder? *J ECT* 2001; 17:91–98.
- Deckersbach T, Perlis RH, Frankle WG, Gray SM, Grandin L, Dougherty DD, Nierenberg AA, Sachs GS Presence of irritability during depressive episodes in bipolar disorder. *CNS Spectrum* 2004; 9:227–231.
- Dell'Osso L, Bianchi C, Del Debbio A, Roncaglia I, Veltri A, Carlini M, Catena Dell'Osso M, Origlia N, Domenici L, Marazziti D, Piccinni A Plasma brain-derived neurotrophic factor in bipolar and unipolar depression. *Giornale Italiano di Psicopatologia* in press.
- Dell'Osso L, Carmassi C, Del Debbio A, Catena Dell'Osso M, Bianchi C, Da Pozzo E, Origlia N, Domenici L, Massimetti G, Marazziti D, Piccinni A Brain-derived neurotrophic factor plasma levels in patients suffering from post-traumatic stress disorder. *Progre Neuropsychoph Biol Psychiatry* 2009; 33: 899–902
- Drevets WC, Price JL, Simpson JR Jr, Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 1997; 386(6627):824-7.
- Drevets WC Functional anatomical abnormalities in limbic and prefrontal cortical structures in major depression. *Prog Brain Res* 2000; 126:413-31.
- D'Sa C, Duman RS Antidepressants and neuroplasticity. *Bipolar Disord.* 2002;4(3):183-94.

- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54:597-605.
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry* 2000;48:732–739.
- Duman RS Neural plasticity: consequences of stress and actions of antidepressant treatment. *Dialogues Clin Neurosci* 2004; 6:157-169.
- Duman RS Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *Eur Psychiatry* 2002; 3:306–310
- Duman RS Role of neurotrophic factors in the etiology and treatment of mood disorders. *Neuromol Med* 2004; 5:11–25.
- Dwivedi Y Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2009; 5:433-449.
- Elfving B, Plougmann PH, Müller HK, Mathé AA, Rosenberg R, Wegener GN Inverse correlation of brain and blood BDNF levels in a genetic rat model of depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 13(5):563-72.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4:1313-7.
- Frank E, Cyranowski JM, Rucci P, Shear MK, Fagiolini A, Thase ME, Cassano GB, Grochocinski VJ, Kostelnik B, Kupfer DJ Clinical significance of lifetime panic spectrum symptoms in the treatment of bipolar I disorder: A preliminary report. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59:905–911.
- Frank E, Shear MK, Rucci P, Cyranowski J, Endicott J, Fagiolini A, Grochocinski VJ, Houck P, Kupfer DJ, Maser JD, Cassano GB Influence of panic-agoraphobic spectrum symptoms on treatment response in patients with recurrent major depression. *Am J Psychiatry* 2000; 157:1101–1107.
- Fujimura H, Altar CA, Chen R, Nakamura T, Nakahashi T, Kambayashi J, Sun B, Tandon NN Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost* 2002; 87:728–734.

- Gervasoni N, Aubry JM, Bondolfi G, Osiek C, Schwald M, Bertschy G, Karege F Partial normalization of serum brain-derived neurotrophic factor in remitted patients after a major depressive episode. *Neuropsychobiology* 2005; 51:234–238.
- Ghaemi SN, Boiman EE, Goodwin FK Diagnosing bipolar disorder and the effect of antidepressants: a naturalistic study. *J Clin Psychiatry* 2000; 61:804–808.
- Ghaemi SN, Ko JY, Goodwin FK “Cade’s Disease” and beyond: misdiagnosis, antidepressant use, and a proposed definition for bipolar spectrum disorder. *Can J Psychiatry* 2002; 47:125– 134.
- Ghaemi SN, Sachs GS, Chiou AM, Pandurangi AK, Goodwin K Is bipolar disorder still underdiagnosed? are antidepressants overutilized? *J Affect Disord* 1999; 52:135–144.
- Goggi J, Pullar IA, Carney SL, Bradford HF Modulation of neurotransmitter release induced by brain-derived neurotrophic factor in rat brain striatal slices in vitro. *Brain Res* 2002; 941(1-2):34-42.
- Goldberg JF, Ernst CL Features associated with the delayed initiation of mood stabilizers at illness onset in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2002; 63:985–991.
- Goldman SA, Nottebohm F Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:2390-4.
- Gonul AS, Akdeniz F, Taneli F, Donat O, Eker C, Vahip S Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2005; 255:381–386.
- Gonul AS, Akdeniz F, Taneli A, Donat O, Eker C, Vahip S The effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003; 3:S20-3.
- Goodwin FK, Jamison KR Manic-depressive illness and recurrent depression. London: Oxford University Press, 2007.
- Goodwin FK, Jamison KR Manic-depressive illness. London: Oxford University Press, 1990.

- Greenwald BS, Kramer-Ginsberg E, Bogerts B, Ashtari M, Aupperle P, Wu H, Allen L, Zeman D, Patel M Qualitative magnetic resonance imaging findings in geriatric depression. Possible link between later-onset depression and Alzheimer's disease? *Psychol Med* 1997; 27(2):421-31.
- Guy W ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology. US Dept Health, Education, and Welfare Publication (ADM). National Institute of Mental Health, Rockville, Md, 1976.
- Hamilton M A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960; 23:56-62.
- Hasin DS, Goodwin RD, Stinson FS, Grant BF Epidemiology of major depressive disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcoholism and Related Conditions. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62:1097–1106.
- Heim C, Nemeroff CB The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 2001; 49(12):1023-39.
- Hellweg R, Ziegenhorn A, Heuser I, Deuschle M Serum concentrations of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in depressed patients before and after antidepressant treatment. *Pharmacopsychiatry* 2008; 41:66–71.
- Hindmarch I Beyond the monoamine hypothesis: mechanisms, molecules and methods. *Eur Psychiatry* 2002; 17(Suppl 3):294-9.
- Hirschfeld RM, Lewis L, Vornik LA Perceptions and impact of bipolar disorder: how far have we really come? results of the National Depressive and Manic-Depressive Association 2000 survey of individuals with bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2003; 64:161–174.
- Huang TL, Lee CT, Liu YL Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: effects of antidepressants. *Journal of Psychiatric Research* 2007; 42:521-525.
- Huber R, Tononi G, Cirelli C Exploratory behavior, cortical BDNF expression, and sleep homeostasis. *Sleep* 2007; 30:129-139.

- Husain MM, Figiel GS, Lurie SN, Boyko OB, Ellinwood EH Jr, Nemeroff CB, Krishnan KR MRI of corpus callosum and septum pellucidum in depression. *Biol Psychiatry* 1991; 29(3):300-1.
- Jensen JL, Kolvenbach C, Roy S, Schoneich C Metal-catalyzed oxidation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): analytical challenges for the identification of modified sites. *Pharm Res* 2000; 17(2):190-6.
- Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Maser J, Solomon DA, Leon AC, Rice JA, Keller MB The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59:530-7.
- Judd LL, Schettler PJ, Akiskal HS, Coryell W, Leon AC, Maser JD, Solomon DA Residual symptom recovery from major affective episodes in bipolar disorders and rapid episode relapse/recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 2008; 65:386-94.
- Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biological Psychiatry* 2005; 57:1068–1072.
- Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry JM Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 2002; 109:143–148.
- Karege F, Schwald M, Cisse M Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neurosci Lett* 2002; 328:261–264.
- Keller MB, Boland RJ Implications of failing to achieve successful long-term maintenance treatment of recurrent unipolar major depression. *Biol Psychiatry* 1998; 44:348-360
- Keller MB, Lavori PW, Rice J, Coryell W, Hirschfeld RM The persistent risk of chronicity in recurrent episodes of non bipolar major depressive disorder: A prospective follow up. *Am J Psychiatry* 1986; 143:24–28.
- Kessing LV Epidemiology of subtypes of depression. *Acta Psychiatr Scand* 2007; 433:85-9.

- Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Hughes M, Eshleman S, Wittchen HU, Kendler KS Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51:8-19.
- Kessler RC The effects of stressful life events on depression. *Annu Rev Psychol.* 1997;48:191-214.
- Klein D Endogenous depression: a conceptual and terminological revision. *Arch Gen Psychiatry* 1974; 31:447-454.
- Klerman G Clinical research in depression. *Arch Gen Psychiatry* 1971; 24:305-319.
- Krishnan KR, McDonald WM, Escalona PR, Doraiswamy PM, Na C, Husain MM, Figiel GS, Boyko OB, Ellinwood EH, Nemeroff CB Magnetic resonance imaging of the caudate nuclei in depression. Preliminary observations. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49(7): 553-7.
- Kupfer DJ, Frank E, Grochocinski VJ, Luther JF, Houck PR, Swartz HA Stabilization in the treatment of mania, depression and mixed states. *Acta Neuropsychiatrica* 2000; 12:110–114.
- Lang UE, Bajbouj M, Gallinat J, Hellweg R Brain-derived neurotrophic factor serum concentrations in depressive patients during vagus nerve stimulation and repetitive transcranial magnetic stimulation. *Psychopharmacology (Berl).* 2006; 187:156–159.
- Laske C, Stransky E, Leyhe T, Eschweiler GW, Wittorf A, Richartz E, Bartels M, Buchkremer G, Schott K Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2006; 113:1217–1224.
- Lee BH, Kim H, Park SH, Kim YK Decreased plasma BDNF level in depressive patients. *J Affect Disord* 2007; 101:239–244.
- Liebowitz M, Klein D Hysteroid dysphoria. *Psychiatr Clin North Am* 1979; 2:555-575.
- Liebowitz MR, Quitkin FM, Stewart JW, McGrath PJ, Harrison WM, Markowitz JS, Rabkin JG, Tricamo E, Goetz DM, Klein DF Antidepressant specificity in atypical depression. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45:129–137.

- Lommatzsch M, Zingler D, Schuhbaeck K, Schloetcke K, Zingler C, Schuff-Werner P The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiol Aging* 2005; 26:115–123.
- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, Nahmias C, Young LT Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(3):1387-92.
- Mammen OK, Pilkonis PA, Chengappa KN, Kupfer DJ Anger attacks in bipolar depression: predictors and response to citalopram added to mood stabilizers. *J Clin Psychiatry* 2004; 65:627–633
- Mann JJ A current perspective of suicide and attempted suicide. *Ann Intern Med* 2002; 136:302–311.
- Mao Y, Hasselback P, Davies JW, Nichol R, Wigle DT Suicide in Canada: an epidemiological assessment. *Can J Public Health* 1990; 81:324–328.
- Marano CM, Phatak P, Vemulapalli UR, Sasan A, Nalbandyan MR, Ramanujam S, Soekadar S, Demosthenous M, Regenold WT Increased plasma concentration of brain-derived neurotrophic factor with electroconvulsive therapy: a pilot study in patients with major depression. *J Clin Psychiatry* 2007; 68:512–517.
- Marazziti D, Roncaglia I, Del Debbio A, Bianchi C, Massimetti G, Origlia N, Domenici L, Piccinni A, Dell’Osso L Brain-derived neurotrophic factor in romantic attachment. *Psychological Medicine* 2009; 39:1-4.
- Matrisciano F, Bonaccorso S, Ricciardi A et al. Changes in BDNF serum levels in patients with depression disorder (MDD) after 6 months treatment with sertraline, escitalopram, or venlafaxine. *J Psychiatr Res.* 2009; 43:247–254.
- McAllister AK, Katz LC, Lo DC Neurotrophin regulation of cortical dendritic growth requires activity. *Neuron.* 1996; 17(6):1057-64.
- McAllister AK, Lo DC, Katz LC Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex. *Neuron.* 1995; 15(4):791-803.

- Miguel-Hidalgo J, Rajkowska G Morphological brain changes in depression. Can antidepressants reverse them? *CNS Drugs* 2002; 16:361–372.
- Mitchell PB, Malhi GS Bipolar depression: Phenomenological overview and clinical characteristics. *Bipolar Disord* 2004; 6:530–539.
- Mitchell PB, Wilhelm K, Parker G, Austin MP, Rutgers P, Malhi GS The clinical features of bipolar depression: a comparison with matched major depressive disorder patients. *J Clin Psychiatry* 2001; 62:212–216
- Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Maj M: Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar Disorders* 2008;10(1):95-100.
- Montgomery SA, Asberg MA A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry* 1979; 134:382-389.
- Murphy JM, Laird NM, Monson RR, Sobel AM, Leighton AH A 40-year perspective on the prevalence of depression: the Stirling County Study. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57:209-15.
- Murray CJ, Lopez AD Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349:1498-1504.
- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 1995; 15:7539–7547.
- Nunes EV, Deliyannides D, Donovan S, McGrath PJ The management of treatment resistance in depressed patients with substance use disorders. *Psychiatr Clin North Am* 1996; 19:311–327.
- Nutt D, Wilson S, Paterson L\_ Sleep disorders as core symptoms of depression. *Dialogues Clin Neurosci* 2008; 10:329-336.
- O’Reardon JP, Amsterdam JD Medical disorders and treatment-resistant depression. In: Amsterdam JD, Hornig M, Nierenberg AA, editors. *Treatment-Resistant Mood Disorders*. New York: Cambridge University Press 2001, 405–429.

- Onen Sertoz O, Tolga Binbay I, Koylu E, Noyan A, Yildirim E, Elbi Mete H The role of BDNF and HPA axis in the neurobiology of burnout syndrome. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32:1459-1466.
- Ongur D, Drevets WC, Price JL Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:13290–13295.
- Palomino A, Vallejo-Illarramendi A, González-Pinto A, Aldam A., González Gómez, C, Mosquera F, González-García G. Matute, C Decreased levels of plasma BDNF in first episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Schizophr Res* 2006; 86:321–322.
- Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ Transport of brain derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998; 37(12):1553-61.
- Pantel J, Schroder J, Essig M, Popp D, Dech H, Knopp MV, Schad LR, Eysenbach K, Backenstrass M, Friedlinger M Quantitative magnetic resonance imaging in geriatric depression and primary degenerative dementia. *J Affect Disord* 1997; 42(1):69-83.
- Parker G, Roy K, Wilhelm K, Mitchell P, Hadzi-Pavlovic D The nature of bipolar depression: implications for the definition of melancholia. *J Affect Disord* 2000; 59:217–224
- Parker G Classifying depression: should paradigms lost be regained? *Am J Psychiatry* 2000; 157:1195–1203.
- Parker G Classifying depression: should paradigms lost be regained? *Am J Psychiatry* 2000; 157:1195-203.
- Patapoutian A, Reichardt LF Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11(3):272-80.
- Patten SB Incidence of major depression in Canada. *CMAJ* 2000; 163:714-5.
- Paykel E Classification of depressed patients: a cluster analysis derived grouping. *Br J Psychiatry* 1971; 118:275-288.

- Paykel ES, Prusoff BA, Klerman GL, Haskell D, DiMascio A Clinical response to amitriptyline among depressed women. *J Nerv Ment Dis* 1973; 156:149–165.
- Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnstock M Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2005; 93:1412–1421.
- Perlis RH, Smoller JW, Fava M, Rosenbaum JF, Nierenberg AA, Sachs GS The prevalence and clinical correlates of anger attacks during depressive episodes in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2004; 79:291–295.
- Perugi G, Akiskal HS, Lattanzi L, Cecconi D, Mastrocinque C, Patronelli A, Vignoli S, Bemi E The high prevalence of “soft” bipolar (II) features in atypical depression. *Compr Psychiatry* 1998; 39:63–71.
- Piccinni A, Del Debbio A, Medda P, Bianchi C, Roncaglia I, Veltri A, Zanello S, Massimetti E, Origlia N, Domenici L, Marazziti D, Dell'Osso L Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor in treatment-resistant depressed patients receiving electroconvulsive therapy. *Eur Neuropsychopharmacol* 2009; 19:349-55.
- Piccinni A, Marazziti D, Catena M, Domenici L, Del Debbio A, Bianchi C, Mannari C, Martini C, Da Pozzo E, Schiavi E, Mariotti A, Roncaglia I, Palla A, Consoli G, Giovannini L, Massimetti G, Dell'Osso L Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2008; 105:279–283.
- Piccinni A, Marazziti D, Del Debbio A, Bianchi C, Roncaglia I, Mannari C, Origlia N, Catena Dell'Osso M, Massimetti G, Domenici L, Dell'Osso L Diurnal variations of plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in humans. A gender analysis. *Chronobiol Int* 2008; 25:819–826.
- Pintor L, Torres X, Navarro V, Martinez de Osaba MA, Matrai S, Gastó C Corticotropin-releasing factor test in melancholic patients in depressed state versus recovery: a comparative study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31:1027-33.
- Pintor L, Torres X, Navarro V, Martinez de Osaba MA, Matrai S, Gastó C Prediction of relapse in melancholic depressive patients in a 2-year

- follow-up study with corticotropin releasing factor test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33:463-9.
- Pizarro JM, Lumley LA, Medina W et al. Acute social defeat reduces neurotrophin expression in brain cortical and subcortical areas in mice. *Brain Res* 2004; 1025:10–20.
- Poo MM Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(1):24-32.
- Post RM Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *Journal of Psychiatric Research* 2007; 41(12): 979-90.
- Rabins PV, Pearlson GD, Aylward E, Kumar AJ, Dowell K Cortical magnetic resonance imaging changes in elderly in patients with major depression. *Am J Psychiatry* 1991; 148(5):617-20.
- Rajkowska G Cell pathology in mood disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry* 2002; 7:281–292.
- Rajkowska G Hisopathology of the prefrontal cortex in depression: What does it tell us about dysfunctional monoaminergic circuits? *Prog Brain Res* 2000; 126:397–412.
- Rajkowska G Morphometric methods for studying the prefrontal cortex in suicide victims and psychiatric patients. *Ann NY Acad Sci U S A* 1997; 836:253–268.
- Ramon y Cajal S *Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. NewYork; Harper Press, 1969.
- Riccio A, Ahn S, Davenport CM, Blendy JA, Ginty DD Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons. *Science* 1999;286(5448):2358-61.
- Rizos EN, Rontos I, Laskos E, Arsenis G, Michalopoulou PG, Vasilopoulos D, Gournellis R, Lykouras L Investigation of serum BDNF levels in drug-naive patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32:1308-11.

- Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry* 2002; 7:609–616.
- Rosenfeld RD, Zeni L, Haniu M, Talvenheimo J, Radka SF, Bennett L, Miller JA, Welcher AA Purification and identification of brain-derived neurotrophic factor from human serum. *Protein Expr Purif* 1995; 6(4):465-71.
- Rosoklija G, Toomayan G, Ellis SP et al. Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57:349–356.
- Rothschild AJ, Benes F, Hebben N, Woods B, Luciana M, Bakanas E, Samson JA, Schatzberg AF Relationships between brain CT scan findings and cortisol in psychotic and nonpsychotic depressed patients. *Biol Psychiatry* 1989; 26(6):565-75.
- Perlis RH, Brown E, Baker RW, Nierenberg AA Clinical Features of Bipolar Depression Versus Major Depressive Disorder in Large Multicenter Trials. *Am J Psychiatry* 2006; 163:225–231.
- Sadovnick AD, Remick RA, Lam RW, Zis AP, Yee IM, Huggins NJ, Baird PA Mood Disorder Service Genetic Database: morbidity risks for mood disorders in 3,942 first-degree relatives of 671 index cases with single depression, recurrent depression, bipolar I, or bipolar II. *Am J Med Genet* 1994; 54:132-40.
- Saito S, Watanabe K, Hashimoto E, Saito T: Low serum BDNF and food intake regulation: A possible explanation of the pathophysiology of eating disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33:312-6.
- Sapolsky RM Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000; 57(10):925-35.
- Schaaf MJM, de Jong J, de Kloet ER, Vreugdenhil E Downregulation of BDNF mRNA and protein in the rat hippocampus by corticosterone. *Brain Res* 1998; 813:112–120.
- Schaaf MJM, Hoetelmans RWM, de Kloet ER, Vreugdenhil E Corticosterone regulates expression of BDNF and trkB but not NT-3 and trkC mRNA in the rat hippocampus. *J Neurosci Res* 1997; 48:334–341.

- Schaff MJ, Durland R, De Kloet ER, Vreugdenhil E Circadian variation in BDNF mRNA expression in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 75:342–344.
- Schinder AF, Berninger B, Poo M Postsynaptic target specificity of neurotrophin-induced presynaptic potentiation. *Neuron* 2000; 25(1):151–63.
- Sen S, Duman R, Sanacora G Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry* 2008; 64 (6): 527-532.
- Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998; 59:22–33.
- Sheline YI. Hippocampal atrophy in major depression: a result of depression induced neurotoxicity? *Mol Psychiatry*. 1996; 1(4):298-9.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* 2003; 54:70–75.
- Simeon D, Guralnik O, Knutelska M, Hollander E, Schmeidler J Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in depersonalization disorder. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25:793-795.
- Simpson SG, Jamison KR The risk of suicide in patients with bipolar disorders. *J Clin Psychiatry* 1999; 60(Suppl. 2):53–56.
- Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *J Neurosci* 1995; 15:1768–1777.
- Soares JC, Mann JJ. The anatomy of mood disorders--review of structural neuroimaging studies. *Biol Psychiatry* 1997; 41(1):86-106.

- Soloff PH, Lynch KG, Kelly TM, Malone KM, Mann JJ Characteristics of suicide attempts of patients with major depressive episode and borderline personality disorder: a comparative study. *Am J Psychiatry* 2000;157:601–608.
- Stein DJ, Daniels WM, Savitz J, Harvey BH Brain-derived neurotrophic factor: the neurotrophin hypothesis of psychopathology. *CNS Spectrums* 2008; 13(11):945-9.
- Thase M, Friedman E Is psychotherapy an effective treatment for melancholia and other severe depressive states? *J Affect Disord* 1999; 54:1-19.
- Thoenen, 1995 Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*. 1995 Oct 27; 270(5236):593-8.
- Trivedi M, Rush A, Wisniewski S, Nierenberg AA, Warden D, Ritz L, Norquist G, Howland RH, Lebowitz B, McGrath PJ, Shores-Wilson K, Biggs MM, Balasubramani GK, Fava M STAR-D Study Team. Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR-D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* 2006.
- Ueyama T, Kawai Y, Nemoto K, Sekimoto M, Toné S, Senba E. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. *Neurosci Res* 1997; 28:103–110.
- Vaidya VA, Marek GJ, Aghajanian GK, Duman RS 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J Neurosci* 1997; 17:2785–2795.
- Vakili K, Pillay SS, Lafer B, Fava M, Renshaw PF, Bonello-Cintron CM, Yurgelun-Todd DA Hippocampal volume in primary unipolar major depression: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 2000; 47(12):1087-90.
- VanPraag H Diagnosis, the rate limiting factor of biological research. *Neuropsychobiology* 1993; 28:197-206.
- Wehr TA, Goodwin FK Can antidepressants cause mania and worsen the course of affective illness? *Am J Psychiatry* 1987; 144:1403–1411.

- Winokur G, Coryell W, Keller M, Endicott J, Leon A. A family study of manic depressive (bipolar I) disease. Is it a distinct illness separable from primary unipolar depression? *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52:367–73.
- Winokur G. The validity of neurotic-reactive depression: new data and reappraisal. *Arch Gen Psychiatry* 1985; 42:1116-1122.
- World Health Organization. *Health Systems: Improving Performance*. Geneva, Tertiary, 2000.
- World Health Organization. *The global burden of disease*. Geneva, Switzerland: World Health Organization Press, 1996.
- Yamamoto H, Gurney ME: Human platelets contain brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci* 1990; 10:3469–3478.
- Yoshimura R, Mitoma M, Sugita A, et al. Effects of paroxetine or milnacipran on serum brain-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 3:1034–1037.