Consiglio di Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale del 16.10.2019 - all. 14/c

# PROPOSTA PROGETTO DIPARTIMENTI DI ECCELLENZA

# TITOLO DEL PROGETTO:

IMPATTO DELLA DEPRESSIONE NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER E NELLE PATOLOGIE CARDIACHE: EVIDENZE SU MODELLO ANIMALE E VALUTAZIONE CLINICA.

# DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA’ PROGETTUALI

INTRODUZIONE. La depressione rappresenta un problema globale di salute pubblica, soprattutto nella popolazione anziana, sia per motivi epidemiologici per la sua elevata incidenza e frequenza in questa fascia di popolazione, sia per motivi sociali in quanto si associa frequentemente ad uno stato di disabilità sociale e funzionale e di perdita di autonomia ed autosufficienza per chi ne è affetto (Assal and Cummings, 2002; Modrego, 2010). La depressione nel corso della vita potrebbe essere il primo sintomo della demenza, ma potrebbe anche, come affermano alcuni ricercatori, essere un forte fattore di rischio per la demenza (Ownby et al., 2006; Pomara and Sidtis, 2007). Si ritiene, infatti, che la depressione nell’anziano sia un fattore di rischio per lo sviluppo delle demenze e che un disturbo dell’umore in età avanzata può essere in alcuni casi il segnale anticipatore della malattia di Alzheimer (MA). E’ stato, inoltre, osservato che pazienti depressi affetti da MA non rispondono alla terapia con antidepressivi convenzionali, diversamente da una popolazione anziana affetta solo da depressione (Pomara and Sidtis, 2007; Sepehry et al.,

2012). Sembrerebbe, pertanto, che la depressione nella MA abbia un’eziopatogenesi differente rispetto al resto della popolazione geriatrica. Ne consegue che nuovi approcci terapeutici sono necessari in questa popolazione che manifesta resistenza al trattamento con antidepressivi convenzionali.

Molte malattie organiche, inoltre, si associano ad un disturbo depressivo maggiore o a sintomi depressivi. Oggi è ampiamente riconosciuto lo stretto legame tra depressione e malattie somatiche ed, in particolare, le malattie cardiovascolari (Libby et al., 2002). A questo proposito è però importante sottolineare che esistono almeno due modalità con cui una malattia cardiaca può coesistere con la depressione. La prima modalità è quella per la quale un paziente non accetta la condizione di malato e reagisce deprimendosi (depressione reattiva). In questo caso la malattia cardiaca interviene come un qualunque fattore stressante. La seconda modalità si configura quando il quadro depressivo non è una conseguenza psicologica della malattia medica ma al contrario è possibile identificare un rapporto fisiologico diretto tra la malattia e la depressione. Le malattie cardiache sono in grado di causare una sintomatologia depressiva del tutto analoga ad un disturbo depressivo ‘primario’ (disturbo depressivo dovuto a condizione medica generale). Recentemente, diversi studi hanno messo in luce il ruolo delle sindromi psicologiche, definite secondo i *Diagnostic Criteria for Psychosomatic Research* (DCPR), in pazienti affetti da malattie cardiache. Ottolini e collaboratori (2005) hanno condotto uno studio in una popolazione di post- infartuati, ed hanno messo in evidenza in tutti i pazienti la presenza di almeno una diagnosi secondo i DCPR. In particolare, la sindrome più frequente, presente nel 56% dei pazienti è risultata “umore irritabile” frequentemente associata con disturbi d’ansia; il 40 % dei pazienti presentava caratteristiche di comportamento tipo A in accordo ai DCPR.

L’attivazione dei processi infiammatori potrebbe essere considerata un comune denominatore della depressione e delle malattie cardiache e per la co-morbidità tra malattie cardiache e depressione. Tale ipotesi deriva dall’osservazione che livelli elevati di citochine pro- ed anti-infiammatorie sono presenti nel siero e nel liquido cefalorachidiano dei pazienti affetti da depressione rispetto al gruppo controllo (Maes, 1995; Thomas et al., 2005; Trzonkowski et al., 2004). E’ stata proposta, inoltre, una teoria immuno-infiammatoria delle lesioni arteriosclerotiche che costituiscono il fattore di rischio più importante per l’insorgenza di coronaropatie (Libby et al., 2002). L’aumento delle citochine infiammatorie è in grado di predire il rischio di sviluppare depressione in pazienti affetti da malattie coronariche (Pizzi et al., 2008; Vaccarino et al., 2007).

Un approccio terapeutico innovativo è rappresentato dall’impiego con valore adiuvante di un regime nutrizionale di tipo chetogenico, in cui l’attesa produzione di corpi chetonici svolge un’azione di tipo neuroprotettivo specificatamente neuro keto terapeutico, potenziando la funzione mitocondriale e riducendo l’espressione di mediatori con funzione infiammatoria, apoptotica e lo stress ossidativo (Rusek and Czuczwar 2019; Taylor MK and Sullivan DK 2019; Pinto A, Businaro R 2018). Pertanto l’adozione di un regime alimentare chetogenico permette di ottenere effetti anti infiammatori, antiossidanti e anti aterogenici e può quindi rappresentare uno utile strumento pleiotropico e sinergico terapeutico (Lu Y and Li F 2018, Cavaleri F, Bashar E 2018).

SCOPI PRINCIPALI DELLA RICERCA.

Il presente progetto, attraverso un approccio multidisciplinare, si prefigge uno scopo duplice:

1. valutare l’insorgenza di fenomeni “depressivo-simili” in un modello animale transgenico di malattia di Alzheimer e testare l’efficacia di un trattamento con farmaci antidepressivi;
2. studiare le variabili ‘psicosomatiche’ in pazienti depressi e in pazienti con malattie cardiache utilizzando i DCPR e valutare i livelli delle citochine pro-infiammatorie al fine di predire/monitorare l’insorgenza e la progressione di entrambe le patologie;
3. valutare l’azione terapeutica adiuvante, derivante dalla adozione di un regime nutrizionale chetogenico, sia sulla modulazione del mood depressivo che sullo stato infiammatorio.

ATTIVITA’ PROGETTUALI

*SCOPO 1: STUDIO PRECLINICO*

A questo scopo, modelli animali transgenici per la MA costituiscono un approccio sperimentale insostituibile. In particolare, saranno utilizzati topi triplo transgenici (3xTg-AD), che esprimono tre geni umani mutati (betaAPPSwe, PS1M146V, e tauP301L), il primo topo transgenico-triplo in grado di sviluppare sia le placche di peptide Beta-Amiloide che l’alterazione neurofibrillare dovuta all’iperfosforilazione della proteina tau, in aree cerebrali corrispondenti a quelle colpite dalla MA nell’uomo (Oddo et al., 2003). Molti autori hanno dimostrano una disfunzione sinaptica localizzata e specifica, correlata con il caratteristico declino cognitivo che colpisce questi topi transgenici, secondo un modello che ricorda la malattia umana.

La principale strategia sperimentale qui proposta prevede uno studio longitudinale sul modello murino di MA attraverso un approccio integrato che metterà in campo metodologie di indagine comportamentale (valutazione del fenotipo “depressivo-simile” attraverso vari test comportamentali ampiamente validati) e metodiche di immunoistochimica (valutazione della progressione della patologia neurodegenerativa).

Saranno, quindi, utilizzati topi omozigoti 3xTg-MA e topi Non-Tg, come controllo. In particolare, il fenotipo depressivo-simile sarà valutato in topi di 2, 6 e 12 mesi di vita (tre gruppi sperimentali). Questi *time-point* sono stati selezionati sulla base della progressione della patologia nei topi 3xTg-MA. Inoltre per valutare l'effetto del trattamento antidepressivo, ciascun gruppo sperimentale sarà trattato in acuto con desipramina, un antidepressivo convenzionale, alla dose di 10 mg/kg. I test comportamentali, a cui saranno sottoposti i topi, sono ampiamente usati per valutare l’efficacia degli antidepressivi: il “Forced Swimming

Test” (FST) e il “Tail Suspension Test” (TST). Questi test hanno una buona validità predittiva e permettono la rilevazione rapida ed economica di sostanze con potenziale attività antidepressiva-simile. L’FST e il TST sono basati sullo stesso principio, cioè sulla misura della durata dell'immobilità dei roditori quando sono esposti ad una situazione inevitabile di stress. La maggior parte di antidepressivi utilizzati clinicamente diminuiscono la durata di immobilità e aumentano la latenza all’immobilità nei due test comportamentali del FST e TST.

Inoltre, al fine di correlare il profilo depressivo-simile con la progressione della patologia, i topi 3xTg-MA saranno sacrificati ed il loro cervello sarà sottoposto a studi di immunoistochimica per valutare la progressione della patologia.

I risultati attesi ci consentiranno non solo di chiarire il ruolo che la Abeta intra- ed extra-cellulare svolge sulle eventuali alterazioni comportamentali, ma, soprattutto, ci permetteranno di gettare le basi per una nuova probabile strategia terapeutica nella cura della depressione associata alla MA.

*SCOPO 2: STUDIO CLINICO*

**Reclutamento dei pazienti e controlli sani.** Pazienti affetti da Depressione Maggiore saranno reclutati in modo consecutivo presso l’SPDC di Foggia e il centro di igiene mentale (CIM) di Foggia. Pazienti affetti da malattie cardiache (pazienti post-infartuati) saranno reclutati in modo consecutivo presso l’Ambulatorio della Divisione di Medicina Interna dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria “Ospedali Riuniti” di Foggia. Si stima che i pazienti arruolati possano essere in numero di 160 (80 pazienti con depressione; 80 pazienti con patologie cardiache). Si stima che i controlli sani possano essere in numero di 80.

**Criteri di inclusione ed esclusione.** I pazienti partecipanti allo studio avranno un range di età di 18-65 anni. I pazienti con ritardo mentale o che abbiano un danno organico cerebrale, o una malattia neurologica, o una significativa storia di alcolismo o di abuso di sostanze negli ultimi sei mesi, non verranno inclusi. La presenza di comorbidità psichiatrica (associata o meno alla depressione) non costituirà un criterio di esclusione. Ai pazienti verrà richiesto il consenso informato alla partecipazione. Si raccoglieranno anche dati provenienti da un gruppo di controlli sani volontari che saranno confrontati per età, sesso. Gli individui che avranno un ritardo mentale o che abbiano un danno organico cerebrale, o una malattia neurologica, o una significativa storia di alcolismo o di abuso di sostanze negli ultimi sei mesi saranno esclusi dal gruppo di controllo. I soggetti normali verranno studiati seguendo lo stesso protocollo. A tutti i partecipanti allo studio verrà richiesto il consenso informato alla partecipazione.

**Procedure di indagine.** Lo studio sarà di tipo longitudinale. Al baseline (T0) i pazienti verranno sottoposti ai seguenti test e valutazioni:

**Valutazione clinica.** Per ogni paziente e controllo sano è prevista la compilazione di una scheda che include le seguenti informazioni: numero ID; età; sesso; istruzione (anni di scolarità), stato civile; lavoro; stile di vita (attività fisica, fumo di sigaretta); data di esordio della depressione o della malattia cardiaca; trattamento in corso; altra patologie croniche in atto; altri trattamenti medici in corso. Ai partecipanti verrà richiesto di fornire un campione di

sangue per la valutazione degli indici biochimici di interesse (*interleukin-6* (IL-6), *interleukin-*

*18* (IL-18), *tumor necrosis factor alpha* (TNFα), *interleukin2receptor* (sIL-2R); PCR unitamente a indici biochimici metabolici e di funzione generale quali: Colesterolo totale, Hdl, Ldl, Trigliceridemia, Insulinemia , Glicemia, Emoglobina glicata, Got, Gpt, Gamma gt, Uricemia, Creatininemia, eGFR, blirubinemia totale e frazionata, elettroforesi proteica, emocromo, albuminemia, potassiemia, cloremia, sodiemia, sideremia, ferritina, trasnferrinemia, esame urine.

**Intervista Clinica/Diagnostica.** Le interviste cliniche e diagnostiche dureranno da 30 a 90 minuti. Tutti pazienti verranno valutati da uno psichiatra con la Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) per la valutazione di patologie psichiatriche ed effettueranno i seguenti test autosomministrati: *Beck Depression Inventory* (BDI) per la valutazione della depressione; DCPR per la diagnosi psicosomatica limitatamente alle sindromi: demoralizzazione, somatizzazione persistente e umore irritabile; questionario per la valutazione dei sintomi somatici il *Patient Health Questionnaire* (PHQ-15).

**Valutazione metabolico-nutrizionale**: tutti i pazienti arruolati saranno sottoposti a visita medica metabolico-nutrizionale che prevede i seguenti *steps* operativi, anamnesi generale ed alimentare, antropometria, valutazione della composizione corporea mediante bio- impedenziometria. Per ciascun paziente sarà sviluppato un piano dietoterapico chetogenico personalizzato comprensivo di integrazione micro-nutrizionale. I pazienti saranno educati all’adozione del regime chetogenico.

**Follow-up.** I pazienti e i controlli sani verranno sottoposti al prelievo ematico per la valutazione dei livelli di citochine,

degli indici biochimici metabolici e di funzione generale nonché della valutazione metabolico–nutrizionale, alla *Beck Depression Inventory* (BDI) per la valutazione della depressione e intervista DCPR per la diagnosi psicosomatica, PHQ-15 per la valutazione dei sintomi somatici del baseline (T0) dopo 6 mesi (T1)**.**

**Outcome.** Associazione delle sindromi DCPR ad alterazioni immunoinfiammatorie nei pazienti con depressione (confronto tra pazienti con depressione con elevati livelli di citochine e pazienti senza alterazione dei livelli di citochine). Associazione delle sindromi DCPR alla depressione e alle malattie cardiache (confronto tra pazienti depressi con livelli elevati di citochine e pazienti con malattie cardiache). Valutazione del ruolo predittivo dello status immunoinfiammatorio sullo sviluppo di sindromi DCPR e sintomi depressivi e somatici. Valutare l’azione terapeutica adiuvante, derivante dalla adozione di un regime nutrizionale chetogenico, sia sulla modulazione del mood depressivo che sullo stato infiammatorio.

**Analisi per sottogruppi.** Se la numerosità del campione lo consentirà verranno effettuate analisi anche per sottogruppi distinguendo pazienti con PCR < 6mg/L e pazienti con PCR

>6mg/L.

# Bibliografia

Assal, F., and Cummings, J. L. (2002). Neuropsychiatric symptoms in the dementias. Curr.

Opin. Neurol. 15, 445–450. doi: 10.1097/00019052-200208000-00007.

Libby P. et al., Inflammation and atherosclerosis. Circulation 2002; 105: 1135-1143.

Maes M. Evidence for an immune response in major response: a review and hypothesis.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 1995; 19:11.38.

Maes M. et al., Increased serum interleukin-1-receptor-antagonist concentrations in major depression. J Affect Disorder 1995; 36:29-36.

Modrego, P. J. (2010). Depression in Alzheimer’s disease. Pathophysiology, diagnosis, and treatment. J. Alzheimers Dis. 21, 1077–1087. doi: 10.3233/ JAD-2010-100153.

Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kayed R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y, LaFerla FM. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. Neuron. 2003 Jul 31;39(3):409-21.

Ottolini F. Modena M.G. t al. Prodromal symptoms in mycocardial infarction. Psychoterapy and Psychosomatics 74, 323-327.

Ownby, R. L., Crocco, E., Acevedo, A., John, V., and Loewenstein, D. (2006). Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. Arch. Gen. Psychiatry 63, 530–538. doi: 10.1001/ archpsyc.63.5.530.

Pizzi C et al., Analysis of potential predictors of depression among coronary heart disease risk factors including heart rate variability, markers of inflammation and endothelial function. European Heart Journal 2008; 29:1110-1117.

Pomara, N., and Sidtis, J. (2007). Possible therapeutic implication of Abeta disturbances in depression. Int. J. Geriatr. Psychiatry 22, 931–932. doi: 10.1002/ gps.1763.

Sepehry, A. A., Lee, P. E., Hsiung, G. Y., Beattie, B. L., and Jacova, C. (2012). Effect of selective serotonin reuptake inhibitors in Alzheimer’s disease with comorbid depression: a meta-analysis of depression and cognitive outcomes. Drugs Aging 29, 793–806. doi: 10.1007/s40266-012-0012-5.

Thomas A.J. et al., Increase in interleukin-1-beta in late life depression. Am J Psychiatry 2005; 162-175-7.

Trzonkovski P. et al., Immune consequences of the spontaneous pro-inlammatory status in depressed ederly patients. Brain Behav Immun 2004; 18:135-48.

Vaccarino V. et al. Depression, inflammation, and incident cardiovascular disease in women with suspected coronary ischemia. J Am Coll Cardiol. 2007; 50:2044-50.

# OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI DEL PROGETTO

Le attività progettuali avranno una durata di 30 mesi (gennaio 2020 – giugno 2022) ed una valutazione semestrale consentirà di verificare il conseguimento dei seguenti obiettivi intermedi e finali in linea con gli scopi della ricerca.

*SCOPO 1: STUDIO PRECLINICO*

Obiettivo intermedio: caratterizzare il fenotipo depressivo-simile nel modello transgenico di MA.

Obiettivo finale: valutare la risposta al trattamento acuto con antidepressivi convenzionali nel modello transgenico di MA.

*SCOPO 2: STUDIO CLINICO*

Obiettivo intermedio: valutare se vi siano differenze nelle caratteristiche cliniche (DCPR) in pazienti affetti da depressione con alterazioni immunoinfiammatorie (elevati livelli di citochine) e pazienti affetti da depressione senza alterazioni immunoinfiammatorie (bassi livelli di citochine). Valutare l’adesione al regime dietoterapico chetogenico e l’entità di chetonemia raggiunta

Obiettivo finale: valutare se lo status infiammatorio (levati livelli di citochine) valutato al baseline (sia nei pazienti depressi che nei pazienti con patologie cardiache) sia predittivo di sviluppo di sintomi somatici, sintomi depressivi, diagnosi psicosomatiche e se l’andamento dei livelli infiammatori sia correlato al decorso dei sintomi depressivi e somatici e diagnosi psicosomatiche. Valutare se il regime dietoterapico chetogenico adiuvante ha esercitato nei due gruppi di pazienti, azioni positive sia sulla modulazione del mood depressivo che sullo stato infiammatorio.

# INDICATORI PER LA VERIFICA DEL RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI

1. Pubblicazioni prodotte. Il criterio principale di verificabilità è costituito dalla presentazione dei risultati sia in Congressi Internazionali che in pubblicazioni di prestigio. Il progetto vede la partecipazione di componenti che hanno una ben nota tradizione di pubblicazione in importanti riviste scientifiche, caratterizzate da alto *impact factor*. Questa caratteristica costituisce una garanzia della qualità della ricerca, dato che la pubblicazione in queste riviste avviene soltanto dopo l'approvazione di 2-3 esperti internazionali nel campo.
2. Avanzamento del progetto rispetto agli obiettivi fissati e ai risultati attesi per le diverse fasi. Al termine di ogni fase del programma sarà stilata una relazione periodica, da cui si evincerà la corrispondenza tra esperimenti realmente effettuati e costi realmente sostenuti.
3. Integrazione tra i diversi componenti il gruppo di ricerca impegnate e scambio di competenze e risultati. Si prevedono degli incontri periodici per discutere dello stato di avanzamento del progetto complessivo e per rendere tutti i componenti del progetto di ricerca partecipi di eventuali problemi che ciascuna ha riscontrato nelle fasi di realizzazione del progetto stesso.
4. Valutazione critica dei risultati ottenuti. La valutazione dovrebbe portare a risultati oggettivi e ripetibili, che possono essere citati come prova. Al fine di valutare meglio i risultati ottenuti, è importante:
   1. descrivere in maniera dettagliata i risultati al fine di agevolare l'estrapolazione dei loro significati;
   2. verificare se i dati sostengono oppure confutano l'ipotesi originale;
   3. verificare se gli esperimenti sono stati condotti con cura;
   4. verificare se le misurazioni sono state fatte con precisione;
   5. verificare se eventuali problemi tecnici riscontrati durante il progetto sono stati superati.

# COMPONENTI DEL GRUPPO DI RICERCA

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Nome | Inquadramento universitario | Ruolo/attività progettuale |
| 1 | Maurizio Margaglione | Professore ordinario | Componente |
| **2** | **Tommaso Cassano** | **Professore associato** | **Proponente** |
| 3 | Maria Grazia Albano | Professore associato | Componente |
| 4 | Rosa Santacroce | Ricercatore | Componente |
| 5 | Giovanna D’Andrea | Ricercatore | Componente |
| 6 | Daniela Fiocco | Ricercatore | Componente |
| 7 | Mario Altamura | Ricercatore | Componente |
| 8 | Ivan Cincione | Ricercatore | Componente |