



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

SOFIA CID DE AZEVEDO

APLICAÇÃO DE BIOLOGIA DE SISTEMAS NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS
BIOMARCADORES NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

Porto Alegre

2024

SOFIA CID DE AZEVEDO

APLICAÇÃO DE BIOLOGIA DE SISTEMAS NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS
BIOMARCADORES NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Psiquiatria e Ciências do Comportamento.

Orientador(a): Marco Antônio Knob Caldieraro

Porto Alegre

2024

CIP - Catalogação na Publicação

Azevedo, Sofia Cid de
Aplicação de biologia de sistemas na identificação
de novos biomarcadores no Transtorno Depressivo Maior
/ Sofia Cid de Azevedo. -- 2024.

97 f.

Orientador: Marco Antonio Knob Caldieraro.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do
Comportamento, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Depressão. 2. Proteômica. 3. Biologia de
Sistemas. I. Caldieraro, Marco Antonio Knob, orient.
II. Título.

SOFIA CID DE AZEVEDO

APLICAÇÃO DE BIOLOGIA DE SISTEMAS NA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS
BIOMARCADORES NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do
Comportamento da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Psiquiatria e Ciências do Comportamento.

Aprovado em: 28/08/2024

BANCA EXAMINADORA

Dr. Marco Antonio Knob Caldieraro - Orientador
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Ives Cavalcante Passos - Relator
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Daniel Prates Baldez
Universidade Federal do Rio Grande

Prof. Dr. Lucas Spanemberg
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Bruno Paz Mosqueiro - Suplente
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*A loucura, objeto dos meus estudos,
era até agora uma ilha perdida no oceano da
razão; começo a suspeitar que é um
continente.*

Machado de Assis

AGRADECIMENTOS

Aos meus pacientes, que renovam o meu amor pela profissão todos os dias.

Ao meu orientador, Dr Marco Antônio Caldieraro, por acreditar no meu potencial e pela parceria durante todos estes anos. Por ser um exemplo de autenticidade e competência.

Ao professor Marcelo Fleck, um grande exemplo de profissional e ser humano. Por toda a sabedoria compartilhada, pela confiança depositada e por me ajudar a enxergar o mundo através de tantas perspectivas valiosas.

Ao colega Jacson Feiten, que foi fundamental na elaboração deste trabalho. Por ter desenvolvido a metodologia e por ter auxiliado em todas as etapas da sua aplicação.

À professora Lisieux Telles, por incentivar a minha curiosidade e a constante busca por respostas, pelo exemplo como profissional e mulher, e por toda a torcida e entusiasmo em todos os meus passos, sempre comemorando comigo todas as conquistas.

À minha amiga e colega Bibiana Bolten, por estar sempre presente nos momentos bons e ruins, sendo uma fonte tão importante de compreensão, comunicação e apoio.

A todos os colegas de residência que me acolheram na jornada de atravessar o país para viver um sonho, pela sensação de pertencimento e por todo o suporte.

Aos meus professores e amigos, Sandro Cavalléro e Camila Macedo, por despertarem em mim o interesse pela pesquisa, pelo ambiente acadêmico e pela busca por evidências, sem nunca deixar de lado o maior objetivo: o tratamento humano e empático e a qualidade de vida dos nossos pacientes.

Aos meus amigos Evandro Hollanda, Lorena Folha e Paola Oliveira, pelo amor e apoio incondicional, pelas risadas e por estarem sempre presentes quando eu mais precisei.

À minha terapeuta Carolina Segalla, pela escuta sempre repleta de compreensão e acolhimento, e por me incentivar a viver a minha versão mais saudável e feliz.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao Programa de Pós Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da UFRGS, por todas as oportunidades de aprendizado e de crescimento que têm sido tão fundamentais durante a minha trajetória.

RESUMO

Introdução: O transtorno depressivo maior (TDM) é um transtorno altamente prevalente e debilitante, mas sua fisiopatologia ainda não foi totalmente elucidada. O objetivo deste estudo é identificar novas proteínas e processos biológicos potencialmente associados ao TDM, por meio de uma abordagem de biologia de sistemas. **Metodologia:** Artigos originais descrevendo a dosagem de proteínas no sangue de pacientes diagnosticados com TDM foram selecionados. Dados sobre as proteínas diferencialmente expressas (PDEs) em cada artigo foram extraídos e importados para o R, e o pacote pathfindR foi usado para identificar os principais termos de ontologia genética envolvidos. Dados do banco de dados STRING foram combinados com as PDEs identificadas nos estudos originais para criar redes expandidas de interações proteína-proteína (IPPs). Um algoritmo foi desenvolvido no R para obter as cinco conexões mais confiáveis de cada PDE e criar as redes, que foram visualizadas através do software Cytoscape. **Resultados:** Dos 510 artigos encontrados, oito que continham todos os valores necessários para a análise foram selecionados, incluindo 1112 pacientes adultos (67,8% mulheres) com TDM e 864 (62,2% mulheres) controles. Um total de 240 PDEs foram identificadas, com o termo de ontologia genética mais significativo sendo “lúmen do retículo endoplasmático” (46 PDEs, valor de $p = 5,5 \times 10^{-13}$). Uma rede estendida de IPPs foi construída, na qual a proteína Anoctamina-8, que não foi identificada em nenhum dos estudos proteômicos, foi a proteína mais central. **Conclusão:** A aplicação de técnicas de biologia de sistemas contribuiu para a interpretação dos dados obtidos em estudos de proteômica aplicada ao TDM, expandindo os achados destas pesquisas. O uso combinado dessas metodologias pode fornecer novos insights sobre a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos, identificando novos biomarcadores para melhorar as estratégias de diagnóstico, prognóstico e tratamento no TDM.

Palavras-chave: depressão, proteômica, biologia de sistemas

ABSTRACT

Introduction: Major depressive disorder (MDD) is a highly prevalent and debilitating disorder, yet its pathophysiology has not been fully elucidated. The aim of this study is to identify novel potential proteins and biological processes associated with MDD through a systems biology approach. **Methodology:** Original articles involving the measurement of proteins in the blood of patients diagnosed with MDD were selected. Data on the differentially expressed proteins (DEPs) in each article were extracted and imported into R, and the pathfindR package was used to identify the main gene ontology terms involved. Data from the STRING database were combined with the DEPs identified in the original studies to create expanded networks of protein-protein interactions (PPIs). An R script was developed to obtain the five most reliable connections from each DEP and to create the networks, which were visualized through Cytoscape software. **Results:** Out of 510 articles found, eight that contained all the values necessary for the analysis were selected, including 1112 adult patients (67.8% female) with MDD and 864 (62.2% female) controls. A total of 240 DEPs were identified, with the most significant gene ontology term being “endoplasmic reticulum lumen” (46 DEPs, p-value = 5.5×10^{-13}). An extended PPI network was obtained, where Anoctamin-8 (ANO8), which was not identified by the proteomic studies, was the most central protein. **Conclusion:** The use of systems biology contributed to the interpretation of data obtained in proteomic studies on MDD and expanded the findings of these studies. The combined use of these methodologies can provide new insights into the pathophysiology of psychiatric disorders, identifying novel biomarkers to improve diagnostic, prognostic, and treatment strategies in MDD.

Keywords: depression, proteomics, systems biology

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ADT	Antidepressivo Tricíclico
AMPA	Ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
ATP	Adenosina Trifosfato
BDNF	<i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>
BP	<i>Biological process</i>
CC	Componente celular
CCA	Córtex Cingulado Anterior
CNV	<i>Copy Number Variant</i>
CPF	Córtex Pré-Frontal
CPF _{DL}	Córtex Pré-Frontal Dorsolateral
CPF _m	Córtex Pré-Frontal Medial
CREB	<i>Cyclic-AMP Response Element Binding protein</i>
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DA	Dopamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSM-V-TR	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition, Text Revision</i>
ECT	Eletroconvulsoterapia
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>

EMT	Estimulação Magnética Transcraniana
GO	<i>Gene Ontology</i>
GSEA	<i>Gene Set Enrichment Analysis</i>
GWAS	<i>Genome-Wide Association Studies</i>
HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HUGO	<i>Human Genome Organization</i>
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IMAO	Inibidor da Monoaminoxidase
IRND	Inibidor da Recaptação de Noradrenalina e Dopamina
ISRN	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
LTP	<i>Long Term Potentiation</i>
MAP	<i>Multiplex Analysis of Proteins</i>
MF	<i>Molecular Function</i>
miRNA	microRNA
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
mTOR	<i>mammalian Target Of Rapamycin</i>
NAD ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
ncRNA	RNA não codificante
NE	Noradrenalina
NIMH	<i>National Institute of Mental Health</i>

NMDA	N-Metil-D-Aspartato
PCR	Proteína C Reativa
RDoC	<i>Research Domain Criteria</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
RIPP	Rede de Interação Proteína-Proteína
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TGF	Fator Transformador de Crescimento
TNF	Fator de Necrose Tumoral
YLD	<i>Years Lived with Disability</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS ENVOLVIDOS NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR	16
2.1.1 Hipótese Monoaminérgica	16
2.1.2 O Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal	17
2.1.3 Hipótese Inflamatória.....	19
2.1.4 Hipótese Neurotrófica	21
2.1.5 Vias Glutamatérgicas e Plasticidade Sináptica.....	22
2.1.6 Alterações Neuroanatômicas e Estruturais.....	24
2.2 ESTRATÉGIAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES	25
2.2.1 O que são biomarcadores?.....	25
2.2.2 Os Estudos “Ômicos”	26
2.2.3 Biologia de Sistemas.....	32
3 JUSTIFICATIVA	39
4 OBJETIVOS	40
4.1 OBJETIVO GERAL.....	40
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
5 MÉTODOS	40
5.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	41
5.2 ESTRATÉGIAS DE BUSCA E SELEÇÃO DE ARTIGOS.....	41
5.3 EXTRAÇÃO DE DADOS	42
5.4 ONTOLOGIA DO GENE.....	42
5.5 REDES DE INTERAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA	43
6 ARTIGO	45
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é altamente prevalente, associado à alta morbidade e prejuízos funcionais, sociais e econômicos. Mundialmente, estima-se que mais de 300 milhões de pessoas sejam acometidas pela depressão, com uma prevalência anual de 4,4% (1). O TDM atualmente representa a 5ª maior causa mundial de Anos Vividos com Incapacidade (YLDs, do inglês *Years Lived with Disability*), totalizando 34,1 milhões de anos (2). Já no Brasil, o TDM representa a 4ª maior carga de doença, com prevalência estimada em 3,3% (3).

Estima-se que 1 a cada 5 pessoas irá desenvolver um episódio depressivo ao longo da vida, com maior probabilidade de início dos sintomas entre a 2ª e a 5ª década de vida (4). O transtorno é quase duas vezes mais comum em mulheres do que homens, diferença atribuída à maior suscetibilidade do sexo feminino por fatores biológicos, psicológicos, ambientais e sociais (1,4). O TDM também apresenta letalidade importante, por ser um dos principais fatores de risco associados ao suicídio, responsável por 1,5% dos óbitos no mundo. O suicídio pode ocorrer em qualquer estágio do desenvolvimento do indivíduo, levando a mais de 13.000 óbitos por ano no Brasil, e quase 800.000 óbitos no mundo. Proporcionalmente, os mais atingidos parecem ser os mais jovens: o suicídio é a segunda maior causa de óbitos na faixa etária de 15 a 29 anos no mundo, e a terceira maior para homens e quarta maior para mulheres de 15 a 34 anos no Brasil (1,5). Até o momento, as principais estimativas de prevalência, incidência e carga de doença se baseiam em dados coletados anteriormente a 2019. Entretanto, estudos preliminares já apontam para um aumento significativo de casos em decorrência da pandemia de COVID-19 (6).

Cerca de $\frac{1}{3}$ dos indivíduos com TDM evoluirão para sua forma mais crônica, denominada Depressão Resistente ao Tratamento (4). Esta apresentação do TDM ocorre quando o indivíduo é refratário a duas ou mais tentativas de tratamento farmacológico (7). Ainda que os antidepressivos mais recentes permitam uma evolução no perfil de efeitos adversos, melhorando a tolerabilidade e reduzindo as interações farmacológicas, a eficácia destas drogas segue similar à dos primeiros antidepressivos desenvolvidos há mais de 50 anos (8). Outros tratamentos somáticos como a eletroconvulsoterapia (ECT), a estimulação magnética transcraniana (EMT), e alguns tipos de psicoterapia complementam o arsenal terapêutico disponível (9). Ainda assim, cerca de 20% dos pacientes seguem sintomáticos após dois anos de tratamento (10). Desta forma, o foco das pesquisas científicas tem sido otimizar a estratégia de tratamento para o TDM. Entretanto, para que novas medicações ou intervenções

sejam desenvolvidas, é necessário um maior entendimento dos mecanismos fisiopatológicos que originam a depressão.

O texto revisado da 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V-TR) caracteriza o TDM pela presença de humor deprimido (tristeza, sensação de vazio e desesperança) e/ou e acentuada diminuição da capacidade de sentir interesse ou prazer, ocorrendo durante a maior parte do dia, na maioria dos dias, por pelo menos duas semanas. É necessário apresentar pelo menos um destes sintomas (Critério A), e no total pelo menos 5 sintomas ao se somar com os sintomas do Critério B: aumento/redução significativa do apetite e/ou do peso; insônia ou hipersonia; agitação ou retardo psicomotor; fadiga ou perda de energia; sentimentos de inutilidade e/ou culpa excessiva; capacidade diminuída de pensar e/ou se concentrar e pensamentos recorrentes de morte. Também é necessário identificar no paciente a presença de sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento em áreas importantes da vida do paciente (11). Um fator determinante para as limitações encontradas até o momento na busca por novas ferramentas terapêuticas é a própria definição do TDM, baseada em parâmetros vivenciados pelo paciente ao longo da doença, como o número de sintomas, os tipos de sintomas, a intensidade dos sintomas e os prejuízos sociais, funcionais e ocupacionais apresentados (12). Este modelo vem se mantendo relativamente inalterado desde as primeiras classificações diagnósticas no final do século XIX, quando o conceito de “melancolia” originado na Grécia antiga deu lugar ao moderno termo “depressão” (13). Curiosamente, mais de 3.000 anos antes do nascimento da psiquiatria como ciência, e até mesmo antes dos gregos, textos médicos originários da Mesopotâmia já descrevem síndromes psiquiátricas, como depressão e ansiedade, com construtos marcadamente similares aos utilizados nos dias atuais (14,15). Já em relação ao DSM, é necessário ressaltar que, desde a publicação do DSM-III, em 1980, o construto de TDM passou por poucas alterações até chegar na sua versão atual.

Outro fator que interfere no avanço das pesquisas sobre o TDM é a heterogeneidade da depressão (16). Ao classificar o transtorno apenas através de critérios clínicos, os fatores biológicos, genéticos, psicológicos e sociais que também participam do adoecimento se tornam invisíveis. Cálculos de análise combinatória estimam que, entre os 9 critérios diagnósticos do DSM, são possíveis mais de 1400 combinações diferentes (17). Subtipos como distímia, depressão psicótica, depressão sazonal, depressão atípica, depressão com sintomas mistos, depressão com sintomas ansiosos e depressão perinatal são fenótipos já conhecidos e diferentes entre si, e potencialmente apresentam também mecanismos etiológicos distintos (9,18).

Ainda hoje os transtornos psiquiátricos são diagnosticados apenas com base em grupos de sintomas e na observação de comportamentos, sem integrá-los com seus mecanismos biológicos (12). Buscando otimizar as classificações diagnósticas em psiquiatria, o *National Institute of Mental Health* (NIMH) propôs, em 2008, uma nova forma de classificar os transtornos mentais, de forma a unir a genética, a neurociência e a ciência comportamental, dando origem ao *Research Domain Criteria* (RDoC). O RDoC busca integrar diversos níveis de informação, desde o molecular até o relato dos sintomas pelo paciente, e também se propõe a aumentar a compreensão da fisiopatologia dos transtornos mentais (19). Neste processo, a descoberta de biomarcadores, especialmente em nível molecular e celular, é um dos elementos centrais.

O estudo de biomarcadores, indicadores objetivos de processos biológicos normais e patológicos, bem como de resposta ao tratamento, também pode auxiliar na melhor compreensão da fisiopatologia da depressão e de seus possíveis tratamentos (20). Biomarcadores só podem ser aprovados após testes rigorosos que atinjam um desfecho conclusivo, se conectando aos mecanismos e apresentações clínicas da doença em questão (18). No caso de transtornos psiquiátricos, os desafios para o estabelecimento de biomarcadores é considerável, já que as apresentações clínicas dos sintomas são altamente variáveis na sua expressão de um indivíduo para outro, e carecem de especificidade para alterações específicas (12). Alterações biológicas encontradas na depressão compreendem modificações genéticas, inflamatórias, endocrinológicas, neurotróficas, metabólicas, de neurotransmissores e estruturais (21).

Entretanto, apesar da vasta quantidade de estudos analisando potenciais biomarcadores no TDM, até o momento, nenhum apresentou acurácia e confiabilidade suficientes para ser consolidado. Consequentemente, a tendência atual das pesquisas em psiquiatria é tentar identificar assinaturas moleculares compostas por vários biomarcadores em conjunto (22). Nesse sentido, os sistemas biológicos e suas vias moleculares podem ser avaliados pelas técnicas conhecidas como “ômicas”: genômica, epigenômica, transcriptômica, proteômica, e metabolômica. Ao analisar sistemas em diferentes níveis, é possível caracterizar e quantificar biomarcadores no nível “ômico” e vincular sua função aos efeitos em um organismo individual (23).

Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de transtornos psiquiátricos são altamente complexos e multifatoriais. Predisposições genéticas podem ter sua expressão modificada pelo ambiente através da epigenética, enquanto alterações na transcrição dos genes podem influenciar na síntese de proteínas, que por sua vez podem interagir entre si ocasionando

diferentes respostas no organismo (24,25). Desta forma, para melhor compreendê-los, pode ser necessário integrar informações em diferentes níveis (21).

Proteínas podem ser modificadas de várias maneiras, como por mudanças nos seus níveis expressos nos tecidos, e também por mudanças na sua conformação ou atividade, através de mecanismos celulares influenciados por fatores internos e externos ao organismo (26,27). Logo, a análise qualitativa e quantitativa de proteínas e a sua detecção em fluidos (soro/plasma, saliva, urina, líquido) e tecidos (linhagens celulares, biópsias e tecidos humanos *post-mortem*) pode representar uma importante ferramenta de detecção de biomarcadores (28). A proteômica é o estudo de qualquer proteína expressa por uma determinada célula, tecido ou organismo em um determinado momento, sob condições conhecidas e determinadas (29). Entre os diferentes níveis de “ômicas”, a proteômica avalia as etapas após a transcrição do gene, e é utilizada para identificar os níveis de expressão de proteínas em um compartimento distinto. Vários níveis de proteínas têm sido implicados no TDM, incluindo citocinas inflamatórias, fatores de crescimento e neurotransmissores (18).

Entretanto, os estudos de proteômica sobre TDM já publicados até o momento apresentam como limitação a heterogeneidade dos achados, provavelmente associada à heterogeneidade entre as amostras de pacientes deprimidos, mas também por diferenças entre os kits de teste disponíveis (30). Técnicas de biologia de sistemas representam novas estratégias que podem transpor estas dificuldades e ser utilizadas para compreender doenças complexas e multifatoriais, como o TDM (31). Biologia de sistemas é a nomenclatura utilizada para descrever o estudo dos componentes moleculares dentro de um único nível, e também entre diferentes níveis biológicos (por exemplo, células, tecidos e órgãos), e como eles se conectam às funções fisiológicas e fenótipos de um organismo (32).

Através de raciocínios quantitativos, modelos computacionais, criação de redes de interação e tecnologias experimentais de alto rendimento, a biologia de sistemas busca compreender como as interações entre os componentes moleculares podem dar origem a funções fisiológicas (e também patológicas), quando o estudo componentes individuais isolados não é conclusivo (33). Desta forma, a integração dos conhecimentos sobre interações de múltiplos componentes são tratadas como um único sistema, criando uma representação mais fidedigna de como ocorrem os processos biológicos (34). Com a possibilidade de visualizar estes processos em redes de interação, observando o impacto de cada fator isoladamente e em grupo sobre cada mecanismo sendo analisado, a biologia de sistemas se torna uma alternativa promissora na busca por novos biomarcadores em transtornos psiquiátricos complexos, como o TDM (25).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS ENVOLVIDOS NO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

2.1.1 Hipótese Monoaminérgica

A hipótese monoaminérgica, desenvolvida na metade do século XX propôs que a depressão seria causada por alterações nos níveis de uma ou mais monoaminas: serotonina (5-HT), noradrenalina (NE) e dopamina (DA). Esta teoria surgiu a partir de descobertas feitas durante pesquisas com o anti-hipertensivo reserpina, cujo principal mecanismo de ação é a depleção de monoaminas. Foi observado que, após o uso desta medicação, pacientes que não sofriam de TDM previamente passaram a apresentar sintomas depressivos (35). A hipótese foi corroborada por evidências de que compostos tricíclicos e inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) elevam as concentrações sinápticas de monoaminas, revertendo sinais e sintomas de depressão (36).

Os processos de funcionamento da memória, regulação comportamental e atenção plena estão todos associados à função do córtex pré-frontal, que é coordenada através de neurônios noradrenérgicos. A DA está ligada a circuitos de recompensa e motivação, à memória de trabalho e à atenção plena, enquanto a 5-HT é responsável pelo maior e mais coeso sistema de neurotransmissores, atuando em todas as áreas do cérebro (37). Sabe-se que vários sintomas comportamentais (fadiga, humor deprimido, retardo psicomotor e anedonia) estão associados a sistemas monoaminérgicos, e que anormalidades nos níveis de DA no cérebro causam comprometimento da motivação, agregação e concentração, enquanto níveis reduzidos de NA (individualmente ou em conjunto com a DA) participam da gênese de vários sintomas depressivos, como irritabilidade, redução de libido, dificuldade de concentração, alterações de apetite e desmotivação (38). Cabe ressaltar que neurotransmissores não operam isoladamente, e estão integralmente interligados através de sistemas de neurotransmissores. Logo, uma alteração em qualquer um desses neurotransmissores provavelmente afeta a função dos demais (39).

Foi demonstrado que a depleção de NA e de triptofano, um aminoácido essencial para a síntese de 5-HT, induz sintomas depressivos em pacientes em remissão previamente tratados para depressão com antidepressivos, mas não tem efeito em indivíduos saudáveis (40). Também há relatos de níveis consideravelmente mais baixos de 5-HT em amostras cerebrais *post mortem*

provenientes de casos de suicídio (38). Entretanto, revisões mais abrangentes da literatura afirmam que não há uma relação clara e consistente entre o TDM e déficits de monoaminas (41,42).

A resposta positiva dos sintomas depressivos ao tratamento com inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (ISRNs), antidepressivos tricíclicos (ADTs), inibidores da recaptação de noradrenalina e dopamina (IRNDs) e IMAOs contribui para a validação deste modelo (43). Entretanto, foi observado que apenas uma parcela dos pacientes apresenta resposta satisfatória a antidepressivos, e até $\frac{1}{3}$ evolui com sintomas refratários mesmo após várias tentativas diferentes de tratamento (44). Além disso, a hipótese dopaminérgica não explica a grande variabilidade de apresentações clínicas observada no TDM, ou por que alguns pacientes respondem a um tipo de antidepressivo e outros não (4). O modelo também não justifica o longo tempo necessário para o tratamento antidepressivo desenvolver a ação terapêutica (várias semanas), mesmo que os níveis de monoaminas sejam rapidamente aumentados (em poucos minutos) por esses medicamentos (45).

Acredita-se que o fenômeno de *downregulation* e a dessensibilização dos receptores são processos secundários a aumentos sucessivos nos níveis de monoaminas após o uso prolongado de antidepressivos, levando à ativação prolongada de receptores (46). A densidade desses receptores no cérebro diminui, porém eles não são totalmente eliminados, e mesmo em baixas concentrações podem ser suficientes para responder às elevações dos níveis de monoaminas. Desta forma, o uso prolongado de antidepressivos pode produzir a ativação ininterrupta de vias de transdução de sinal dentro da célula, dando início a cascatas de sinalização que viabilizam a melhora dos sintomas depressivos a longo prazo (47). Estes achados sugerem que as monoaminas estão de alguma forma envolvidas no desenvolvimento e manutenção da resposta antidepressiva; porém, por si só, não conseguem explicar a fisiopatologia da doença (48).

2.1.2 O Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

Frequentemente é possível observar uma associação entre estresse e depressão. Sabe-se que eventos estressores podem desencadear episódios depressivos em indivíduos suscetíveis, e que a exposição a alguns tipos de estressores na infância está associada a um maior risco de desenvolver sintomas depressivos na vida adulta (49,50). Em seres humanos, os mecanismos de resposta ao estresse envolvem o aumento da secreção de múltiplos hormônios, como glicocorticóides, catecolaminas, hormônio do crescimento e prolactina, cujos efeitos buscam

adaptar o indivíduo às modificações no ambiente externo. Tais hormônios e mediadores celulares promovem eventos adaptativos quando a resposta é eficientemente ativada e/ou bloqueada, mas também podem promover processos patológicos quando a resposta ao estresse é excessiva ou desregulada (51). Consequentemente, a relação entre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e o TDM tem sido um foco de estudo importante nas últimas décadas.

Ao reconhecer a presença de estresse, o córtex pré-frontal (CPF) propaga a informação ao hipotálamo, que por sua vez secreta o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), estimulando a síntese e liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise (52). O ACTH então estimula a liberação de glicocorticóides (cortisol) pelo córtex adrenal, mediando uma variedade de mudanças adaptativas em resposta ao estresse, incluindo aumento da pressão arterial, débito cardíaco, resposta imunológica e circulação de glicose no sangue, além de agir diretamente em receptores de glicocorticóides no eixo HHA, exercendo *feedback* negativo sobre a secreção de CRH e ACTH (53,54).

Os glicocorticóides apresentam vários efeitos centrais, tais como: 1) Regulação da sobrevivência neuronal; 2) Regulação da neurogênese; 3) Regulação do tamanho do hipocampo; 4) Formação de novas memórias e; 5) Regulação da avaliação emocional sobre determinados eventos (55). Estes hormônios agem diretamente em três regiões do cérebro: o córtex pré frontal medial (CPFm), relacionado com funções executivas e no processamento de emoções; o hipocampo, envolvido no aprendizado e consolidação de memórias; e na amígdala, também responsável pelo processamento de emoções (56). Entretanto, a exposição ao estresse crônico pode levar à dessensibilização dos receptores glicocorticóides, inibindo a alça de *feedback* negativo e ocasionando uma “hiperativação” do eixo HHA. Esta elevação persistente nos níveis de cortisol impacta diretamente o hipotálamo, ao inibir a neurogênese e induzir a apoptose neuronal e a atrofia de espinhas dendríticas, prejudicando ainda mais os mecanismos de *feedback* negativo (36,57).

A desregulação do eixo HHA apresenta diversas correlações clínicas que validam a hipótese. Níveis elevados de CRH produzem modificações comportamentais e fisiológicas como redução do apetite, redução da libido e perturbações do sono, também presentes no TDM (52,58). Cerca de 40% a 60% dos pacientes com TDM apresentam sinais de hiperativação do eixo HHA, como níveis elevados de cortisol em amostras de sangue, saliva e urina; elevações de CRH em amostras de líquor e em regiões límbicas; aumento de tamanho e atividade da hipófise e glândulas adrenais (59–61). A associação com hipercortisolemia parece ser mais forte para episódios depressivos mais graves, subtipos melancólicos e com sintomas psicóticos (62,63).

Acredita-se que o tratamento com antidepressivos pode restabelecer a função dos receptores glicocorticóides e normalizar o equilíbrio do eixo HHA (64). Entretanto, em casos onde não ocorre a recuperação do eixo, a resposta ao tratamento tende a ser menor, com maiores taxas de recaída e pior prognóstico (65,66). Apesar da quantidade de evidências que implicam o desequilíbrio do eixo HHA no TDM, a causalidade nesta relação ainda é incerta. Apesar de estar implicada na ocorrência do TDM, sabe-se que apenas metade dos pacientes com este diagnóstico apresenta alterações detectáveis no eixo HHA (67). Estudos mais recentes sugerem que a influência dos glicocorticóides nos mecanismos envolvidos na depressão seja mediada também pela ativação do sistema imune (68).

2.1.3 Hipótese Inflamatória

A ativação do eixo HHA interfere diretamente nas ações do sistema imune no organismo. Quando os níveis de cortisol aumentam, a síntese de citocinas pró-inflamatórias diminui, e quando os níveis de cortisol diminuem, a síntese de citocinas pró-inflamatórias aumenta (69). Logo, durante o processo de reação aguda ao estresse, os hormônios glicocorticóides também atuam neutralizando os efeitos da inflamação no organismo. Entretanto, a exposição ao estresse crônico pode levar a uma vulnerabilidade sustentada às citocinas inflamatórias, que favorecem o surgimento da resistência aos glicocorticóides no eixo HHA, tornando-o hiperativado (70). A hipótese de que as citocinas induzem alterações significativas em sistemas relacionados ao desenvolvimento do TDM, como o eixo HHA e o sistema nervoso simpático, já foi extensamente consolidada pela literatura (71).

Citocinas são substâncias sintetizadas principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos, bem como células cerebrais como neurônios, células endoteliais, astrócitos e micróglia. Elas atuam em receptores específicos localizados nas membranas celulares para transmitir informações às células, e são divididas em: 1) interleucinas (ILs); 2) quimiocinas; 3) fatores de necrose tumoral (TNF); 4) interferons (IFNs) e; 4) fatores transformadores de crescimento (TGFs) (72)). Além desta divisão, as citocinas são classificadas como 1) Pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ e TNF- α) e 2) Anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 e fatores de crescimento transformadores beta - TGF- β) (73). As concentrações periféricas de citocinas têm sido associadas à função cerebral, ao bem-estar e à cognição (74). Acredita-se que elas possam induzir alterações estruturais e funcionais no sistema nervoso central (SNC), resultando em sintomas depressivos.

A teoria macrofágica da depressão foi proposta no início dos anos 1990, com base na observação de que as citocinas inflamatórias IL-6 e IL-1 β poderiam induzir sintomas depressivos em indivíduos não deprimidos (75). Estudos posteriores identificaram que a administração de IFN- α no tratamento de hepatite C também induz sintomas depressivos em 30-50% dos pacientes tratados, elevando níveis de IL-2, IL-6 e TNF- α (76), além de induzir outras alterações comportamentais, como ansiedade, anedonia, fadiga e alterações do sono (77–79). Desta forma, a depressão induzida por IFN- α tem sido usada como modelo no estudo de como alterações inflamatórias levam a sintomas comportamentais, como observado no TDM. O exato mecanismo da depressão induzida por IFN- α ainda não está claro; entretanto, fatores de exposição prévia, incluindo inflamação, podem estar correlacionados com a etiologia depressiva. Sabe-se que estressores ao longo do desenvolvimento, como abusos físicos e sexuais na infância, impactam diretamente nos sistemas neuroendócrino e imunológico, desencadeando o surgimento de fenótipos pró-inflamatórios durante a idade adulta (80,81). Traumas na infância parecem levar a aumentos nos níveis de IL-6 e proteína C reativa (PCR), o que pode ocorrer devido a uma elevada reatividade do eixo HHA durante a idade adulta (82,83). Evidências consistentes sugerem que a exposição a estressores psicossociais pode induzir inflamação, tornando-se um fator de risco para o desenvolvimento do TDM (77,84).

A relação entre depressão e inflamação é bidirecional. Pacientes deprimidos apresentam uma maior taxa de doenças autoimunes e inflamatórias, e as taxas de depressão são significativamente mais altas entre indivíduos com condições médicas inflamatórias crônicas, tanto em distúrbios que afetam principalmente o SNC, como a esclerose múltipla (85), quanto naqueles que afetam a periferia, como a artrite reumatóide e doença inflamatória intestinal (86–88). A hipótese inflamatória do TDM sugere que citocinas pró-inflamatórias impactam não só o sistema imunológico periférico, mas também o metabolismo dos neurotransmissores, o eixo neuroendócrino, a neurogênese e a atividade cerebral, influenciando na gênese da depressão através de diversas vias (89–91).

Diversas metanálises identificaram elevações de IL-1, IL-6, TNF- α e PCR em pacientes com TDM (92–96). Além disso, também foi demonstrado que proteínas de fase aguda, quimiocinas e moléculas de adesão estão aumentadas no sangue periférico de pacientes deprimidos (97). Sabe-se os tratamentos antidepressivos reduzem a síntese de citocinas pró-inflamatórias periféricas e induzem a produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e TGF- β 1, e fatores neurotróficos como o BDNF, exercendo um efeito imunoregulador significativo em pacientes com TDM (98,99). Também foi identificado que pacientes com TDM não tratada apresentaram níveis mais elevados de marcadores inflamatórios, e que após

tratamento com antidepressivos, foram aumentados os níveis de citocinas anti-inflamatórias. Já no grupo de pacientes não respondedores ao tratamento, os níveis de citocinas pró-inflamatórias seguiram elevados (100).

A hipótese inflamatória sugere que o desequilíbrio de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias pode estar envolvido nos mecanismos fisiopatológicos da depressão. Dentro desta perspectiva, ela complementa as lacunas deixadas pela hipótese monoaminérgica, corroborando com a teoria de que a depressão é o evento final de uma falha de adaptação ao estresse crônico, e que a neuroinflamação e as citocinas estão envolvidas neste processo.

2.1.4 Hipótese Neurotrófica

Descobertas sobre a influência da resposta ao estresse na neurogênese no hipocampo, e sua associação com o TDM, possibilitaram o surgimento da hipótese neurotrófica da depressão (101). Fatores neurotróficos foram inicialmente descritos como reguladores do crescimento e diferenciação neural durante o desenvolvimento do SNC, mas atualmente já se sabe que também atuam na plasticidade e sobrevivência de neurônios e células da glia. A hipótese neurotrófica propõe que déficits na regulação neurotrófica podem contribuir para alterações hipocampais envolvidas na gênese da depressão, e que a reversão destes déficits por tratamentos antidepressivos pode contribuir para a melhora de sintomas depressivos (52).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *brain-derived neurotrophic factor*) é a neurotrofina mais comum no cérebro humano, e está envolvido na síntese, diferenciação, manutenção e sobrevivência de neurônios, tanto no sistema nervoso central quanto no periférico (102). O BDNF é expresso em grandes quantidades no sistema límbico, e é considerado o principal regulador no processo de neurogênese (36). A exposição ao estresse agudo e/ou crônico pode reduzir a expressão do BDNF, induzindo a atrofia e reduzindo a proliferação celular no hipocampo (51).

Os níveis séricos de BDNF estão reduzidos em pacientes deprimidos, mas podem ser normalizados através do tratamento da depressão, tanto com antidepressivos como com psicoterapia e ECT (103,104). Ainda que a concentração sanguínea de neurotrofinas tenha valor controverso, também há evidências de que o efeito antidepressivo dos tratamentos tem potencial de atenuar ou reverter a atrofia hipocampal (105). Estudos *post mortem* com amostras de tecido cerebral de indivíduos deprimidos falecidos por suicídio também identificaram concentrações reduzidas de BDNF no hipocampo (106,107). Acredita-se que a administração continuada de antidepressivos (e o consequente aumento de monoaminas na fenda sináptica) aumente a

expressão do fator de transcrição CREB (do inglês *cyclic-AMP response element binding protein*) várias regiões do SNC, aumentando a expressão do BDNF (48,52,108).

Os mecanismos pelos quais novos neurônios podem melhorar sintomas depressivos ainda não são completamente conhecidos. Acredita-se que a neurogênese possa facilitar a resiliência contra o estresse, o que poderia ser a base dos efeitos clínicos antidepressivos (109). Ainda que a elevação da concentração de monoaminas na fenda sináptica seja necessária para os efeitos dos antidepressivos, este aumento de neurotransmissores não necessariamente tem ação direta sobre o humor. Entretanto, o estímulo da neurogênese e o consequente aumento da plasticidade em redes límbicas e corticais disfuncionais torna possível o processo de aprendizado e adaptação frente aos estímulos estressores (110,111). Desta forma, a hipótese neurotrófica se conecta às teorias monoaminérgicas, neuroendócrinas e inflamatórias, fornecendo uma explicação para o tempo de ação necessário para o início do efeito terapêutico dos antidepressivos (48).

2.1.5 Vias Glutamatérgicas e Plasticidade Sináptica

Descobertas recentes expandiram o conhecimento sobre a influência da plasticidade sináptica no TDM. Com base em estudos demonstrando que a administração de antidepressivos alterava a afinidade de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), e na hipótese de que uma redução na função de receptores NMDA contribua para a ação de antidepressivos, Berman et al identificaram que, após receberem uma única dose de infusão endovenosa de quetamina (um antagonista do receptor NMDA), pacientes com TDM apresentaram melhora dos sintomas depressivos em poucas horas (112). Este achado foi posteriormente corroborado por ensaios clínicos randomizados, representando uma das descobertas mais relevantes na psiquiatria nos últimos 60 anos (113).

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório liberado pelas sinapses no SNC, e está envolvido na plasticidade sináptica, processos cognitivos, processamento emocional e de sistemas de recompensa. A exposição ao estresse pode induzir a secreção pré-sináptica de glutamato, que se liga fortemente aos receptores ionotrópicos de glutamato, incluindo receptores NMDA e receptores de ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiônico (AMPA) na membrana pós-sináptica, ativando vias de sinalização, regulando o crescimento neuronal, a migração, a poda, a apoptose e a sinaptogênese (105). O acúmulo patológico da neurotransmissão glutamatérgica leva à diminuição da quantidade de receptores de glutamato, retração e até à perda de espinhas dendríticas. O efeito de “transbordamento” do glutamato

rompe os mecanismos homeostáticos da plasticidade sináptica, responsáveis pela vulnerabilidade e perda das conexões sinápticas neurais (114).

Diversas evidências sugerem que as vias glutamatérgicas estão implicadas na gênese da depressão. O estresse agudo aumenta a concentração extracelular de glutamato no CPFm e no hipocampo, gerando a hipótese de que a excitotoxicidade mediada pelo glutamato, através dos receptores NMDA, é responsável pela atrofia dos neurônios nessas regiões cerebrais (115). A exposição ao estresse crônico prejudica a liberação e recaptção do glutamato pelos receptores AMPA e NMDA, resultando na redução da densidade e diâmetro das sinapses, do comprimento dendrítico e da arborização neuronal. Esta exposição também pode levar a alterações desadaptativas das sinapses do glutamato e agravar a ativação das vias apoptóticas celulares (116). Estudos de neuroimagem e *post mortem* identificaram a elevação de níveis de glutamato no plasma, no líquido e no tecido cerebral de pacientes com TDM e vítimas de suicídio (117–120). Autópsias de pacientes com TDM identificaram alterações na expressão e função dos receptores NMDA, além de anormalidades na transmissão da glutamina no SNC (121–123). Danos às células da glia, essenciais nas vias de sinalização glutamatérgica, também já foram encontrados no CPF de pacientes com TDM (124). Em resumo, a exposição ao estresse crônico interfere negativamente na estrutura e no funcionamento dos neurônios glutamatérgicos, corroborando a hipótese de que a atrofia destes neurônios contribui para a redução de volume cortical e de estruturas límbicas implicada na fisiopatologia da depressão (125).

Os receptores de glutamato e NMDA desempenham um papel importante nos modelos celulares de aprendizagem e memória, e principalmente na potenciação de longo prazo (LTP, do inglês *long term potentiation*), caracterizada pelo fortalecimento sináptico sustentado em resposta à estimulação prévia de alta frequência. A quetamina age bloqueando os receptores NMDA localizados nos interneurônios GABAérgicos, resultando na desinibição de neurônios glutamatérgicos (126). Assim, ocorre uma espécie de “explosão” de glutamato no CPF que ativa receptores AMPA pós sinápticos, que acionam a via mTOR (do inglês *mammalian target of rapamycin*), levando à expressão de proteínas sinápticas e o consequente aumento da densidade de espinhas dendríticas. Acredita-se que esta explosão de glutamato também ativa canais de cálcio sensíveis à voltagem, liberando BDNF e outras neurotrofinas que também contribuem para os efeitos de plasticidade sináptica (127). Através destes mecanismos, em poucas horas a quetamina também age causando um incremento semelhante à LTP na formação de sinapses no CPFm e no hipocampo (128).

2.1.6 Alterações Neuroanatômicas e Estruturais

Os efeitos celulares do estresse no TDM também apresentam consequências morfológicas visíveis no SNC, que podem ser avaliadas em estudos *post mortem* ou através de técnicas de neuroimagem. O hipocampo é a região do cérebro mais estudada em pacientes com TDM, por ter um papel importante em processos de aprendizado e memória, e também por ser rico em receptores glicocorticóides e se relacionar diretamente com o hipotálamo, regulando o *feedback* do eixo HHA (129,130). Além disso, o hipocampo é uma das duas únicas áreas (junto ao bulbo olfatório) onde a neurogênese ocorre na vida adulta, sendo um sítio importante em processos de neuroplasticidade (45,131). Sabe-se que o hipocampo apresenta uma redução volumétrica de até 8% a 19% em pacientes com TDM, que parece ser reversível em pacientes que atingem remissão com antidepressivos e ECT (132–134). O dano estrutural ao hipocampo permanece em casos refratários ao tratamento, e parece progredir quanto mais longo é o tempo de doença (135,136). A atrofia de espinhas dendríticas parece ser o principal mecanismo envolvido, sugerindo uma perda sináptica significativa, suficiente para ocasionar a redução de tamanho visível a olho nu (45). As alterações estruturais no hipocampo de pacientes com TDM assemelham-se àquelas observadas após exposição prolongada ao estresse, ou a altos níveis de glicocorticóides circulantes, como é o caso de pacientes com síndrome de Cushing (137).

Diversas alterações estruturais no CPF também já foram implicadas no TDM. A exposição prolongada ao estresse no CPF promove alterações neurodegenerativas como ativação da micróglia, atrofia de neurônios piramidais, retração dendrítica e redução de proteínas sinápticas (138–141). O córtex cingulado anterior (CCA) parece ser uma das regiões mais sensíveis à exposição ao estresse, apresentando redução de volume em pacientes com TDM (134). Ele atua no processamento emocional de estímulos internos e externos, na produção de estados afetivos e na regulação autonômica relacionada a reações emocionais, além de regular aspectos da função executiva, como a atenção seletiva, o planejamento e a regulação de estados afetivos (142). Reduções na densidade neuronal e de células da glia também já foram identificadas no córtex pré-frontal dorsolateral (CPF_{DL}) e no córtex orbitofrontal (143). Já em estudos de neuroimagem funcional, foi observada a redução nos níveis de atividade no CPF_{DL} em pacientes com TDM, prejudicando funções de controle cognitivo, resolução de tarefas complexas, manutenção e organização de informações na memória de trabalho (130,144). A redução de atividade nesta região também já foi associada com sintomas de anedonia e retardo psicomotor.

A amígdala está envolvida no processamento de estímulos, no aprendizado emocional, na memória e na regulação neuroendócrina (144). Evidências relacionadas a alterações morfológicas na amígdala ainda são inconsistentes. Entretanto, é consenso que, em episódios depressivos, ocorre um aumento funcional da atividade da amígdala, que tende a ser diretamente proporcional à gravidade dos sintomas (145). Tal aumento também parece estar relacionado à tendência à ruminação e à ansiedade (146).

Pacientes com TDM tendem a apresentar redução da densidade neuronal subcortical, além da redução de astrócitos e micróglia (147). Também ocorre redução do fluxo sanguíneo no CPFDL e no CCA, em paralelo ao aumento do fluxo sanguíneo na amígdala e no CPF ventromedial (145,148). Tais alterações favorecem a ocorrência de retardo psicomotor, apatia, prejuízo atencional, ansiedade, pensamento ruminativo e maior sensibilidade a estímulos negativos (142). Outras alterações também já foram reportadas em regiões como tálamo, ínsula, cerebelo e núcleos da base (149,150). Entretanto, os achados ainda são muito heterogêneos e pouco reprodutíveis, possivelmente refletindo a própria heterogeneidade do TDM.

2.2 ESTRATÉGIAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES

2.2.1 O que são biomarcadores?

O *National Institute of Health* define um biomarcador como “uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica” (151). Um biomarcador é um parâmetro que pode ser medido e claramente diferenciado entre estados normais e patológicos. Entre possíveis biomarcadores estão os genes, seus produtos como RNA, proteínas e modificações pós-traducionais dessas proteínas, lipídios ou complexos biomoleculares. Portanto, praticamente qualquer molécula presente no corpo humano é um potencial candidato a biomarcador, quando as alterações em seus níveis puderem ser associadas a algum transtorno ou doença (152).

Biomarcadores com foco mecanicista tem potencial para expandir a compreensão de uma doença e, assim, guiar o desenvolvimento de terapêuticas direcionadas (153). Idealmente, um biomarcador adequado precisa apontar para algum processo fisiopatológico específico de uma doença, e não apenas refletir sintomas puramente clínicos ou consequências secundárias da atividade da doença. Além disso, também deve ser reprodutível de forma confiável, e apresentar medidas adequadas de acurácia. Para que seja incorporado na prática clínica, o

biomarcador também precisa ser obtido com praticidade: sua aferição não deve causar danos ao indivíduo, sendo preferencialmente não-invasivo, de simples obtenção, e de custo acessível (12).

Biomarcadores podem ser utilizados com diversas finalidades, como (154):

- Biomarcadores de risco: quantificam a predisposição de um indivíduo para desenvolver um determinado transtorno.
- Biomarcadores diagnósticos: características mensuráveis que indicam a presença de uma doença e são sensíveis e específicas.
- Biomarcadores de estado: refletem a gravidade do processo patológico.
- Biomarcadores de estágio: utilizados para determinar o estadiamento de doenças progressivas e/ou degenerativas.
- Biomarcadores de resposta ao tratamento: estimam a probabilidade de resposta a um tratamento específico.
- Biomarcadores prognósticos: fornecem uma previsão do curso provável da doença.

A identificação de biomarcadores em transtornos psiquiátricos ainda é um desafio, devido à semelhança dos sintomas entre diferentes doenças (que pode resultar em incerteza diagnóstica), à acentuada heterogeneidade dos sintomas em pacientes com o mesmo diagnóstico, e ao desconhecimento das causas subjacentes a cada transtorno em níveis moleculares (155). Portanto, a aplicação clínica de biomarcadores em transtornos neuropsiquiátricos ainda é restrita, por resultados inconsistentes e baixo impacto nos possíveis desfechos (156). Considerando que genes e seus produtos não codificam diretamente sintomas ou comportamentos, é improvável que biomarcadores sejam específicos para diagnósticos psiquiátricos. Ainda assim, o estudo dos biomarcadores tem potencial para corroborar diagnósticos, informar sobre a fisiopatologia da doença ou orientar a tomada de decisões sobre o tratamento ideal para cada indivíduo (157).

2.2.2 Os Estudos “Ômicos”

No TDM, assim como em outras condições de saúde, os biomarcadores podem ser examinados numa ampla variedade de níveis, conhecidos como “ômicos”. Em psiquiatria, os sistemas biológicos, suas vias moleculares e seus efeitos podem ser avaliados pelas seguintes ômicas: genômica, epigenômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica. Ao analisar sistemas em diferentes níveis, podemos caracterizar e quantificar biomarcadores ao nível “ômico” e vincular sua função aos efeitos em um organismo individual (23).

2.2.2.1 Genômica

As primeiras pesquisas avaliando a expressão genética em psiquiatria tiveram como foco famílias, gêmeos e indivíduos adotados, fornecendo fortes evidências de herdabilidade para os principais transtornos psiquiátricos. A herdabilidade estima a proporção da variação individual em uma característica específica, que é explicada por fatores herdados, enquanto o restante da variação é explicado por fatores não herdados (158). Estima-se que a herdabilidade do TDM seja de baixa a moderada, o que é compatível com as hipóteses prévias sobre os mecanismos envolvidos na gênese da depressão, altamente influenciados pela exposição a fatores estressores externos (158,159). Pela complexidade do TDM, com etiologia multifatorial e um número indeterminado de subtipos, considera-se que a influência genética no transtorno seja poligênica, ou seja, através da expressão de múltiplos genes distintos (36).

Após o mapeamento do genoma humano, estudos buscando “genes candidatos” foram popularizados, porém não obtiveram resultados replicáveis (160). Levando em consideração os estudos com tamanhos amostrais reduzidos e insuficientes, e genes com tamanhos de efeito individuais muito pequenos, foram propostos os estudos de associação por varredura ampla de genomas (GWAS, do inglês *genome-wide association studies*). Os GWAS são estudos genômicos que buscam identificar diferenças na frequência alélica de variantes genéticas entre grupos de indivíduos que compartilham ancestrais semelhantes, mas são fenotipicamente diferentes (por exemplo, casos de TDM versus controles saudáveis). Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single-nucleotide polymorphisms*) são as variantes genéticas mais amplamente analisadas em GWAS, através de ensaios de genotipagem, que também são utilizados para detectar variantes de grande número de cópias (CNVs, do inglês *copy number variants*). Os GWAS identificam SNPs que possuem associações estatisticamente significativas com os fenótipos de interesse, com base na associação que atinge significância em todo o genoma (utilizando uma correção para todos os SNPs testados) e mostra evidências de replicação independente (9).

Os GWAS confirmaram as hipóteses sobre a natureza poligênica e pleiotrópica (na qual a expressão de um único gene controla várias características fenotípicas distintas) dos transtornos psiquiátricos (161). Entretanto, estes estudos identificam apenas a região do genoma que pode estar envolvida, mas não está diretamente relacionada à função biológica potencial. Além disso, a associação de um gene com o fenótipo do TDM pode apenas fazer parte das vias patogênicas da doença, ou também ser indiretamente influenciada por características

intermediárias na via causal no resultado final (162). Desta forma, para que estes biomarcadores genéticos possam contribuir para uma maior compreensão dos mecanismos envolvidos no TDM, é necessário entender como os alelos interagem entre si, e também como interagem com fatores ambientais (163).

2.2.2.2 Epigenômica

Após a identificação das variantes de risco genético através dos GWAS, foi evidenciada a necessidade de investigar a relação entre estes marcadores e o ambiente. Os estressores ambientais podem ocasionar alterações na expressão gênica no SNC, o que pode alterar a plasticidade neuronal em áreas relacionadas à fisiopatologia do TDM. A epigenética ou epigenômica é o estudo das modificações da expressão do genoma (sem alterações na sequência do DNA) e podem resultar em alterações na expressão gênica, permitindo a expressão diferencial de informações genéticas comuns (164,165). O estudo das modificações epigenéticas possibilita a compreensão dos efeitos das influências ambientais no genoma e no surgimento de doenças (166).

Mecanismos epigenéticos tradicionais, como a metilação do DNA, a acetilação de histonas, a remodelação da cromatina e a regulação mediada pelo RNA não-codificante (ncRNA), afetam as interações entre o DNA e proteínas, a diferenciação celular, a embriogênese, a impressão genômica e inativação do cromossomo X (167). Através destes mecanismos, a epigenética também regula a expressão gênica envolvida na plasticidade neuronal, na resposta ao estresse, nos comportamentos depressivos e na resposta aos antidepressivos (168).

Mudanças epigenéticas podem ocorrer devido a fatores de estresse, que podem ser tanto físicos quanto psicológicos. Dependendo da gravidade dos estressores, em indivíduos vulneráveis, regiões cerebrais podem ser especialmente afetadas por meio de alterações na estrutura da cromatina de *loci* genômicos específicos, levando a modificações significativas na expressão genética que podem contribuir para a depressão (169). Estudos investigando as interações gene x ambiente consideram eventos de vida traumáticos como a principal exposição ambiental em transtornos de humor (170). Sob influência de estressores externos, a epigenética pode modular o eixo HHA e influenciar nos níveis de reatividade a estressores ao longo da vida (171).

Apesar de ainda incipientes, os estudos de epigenômica têm potencial de contribuir com a compreensão da heterogeneidade fenotípica a partir de uma determinada variação genética ou

exposição a um estressor ambiental, fornecendo informações adicionais sobre os supostos mecanismos subjacentes ao TDM (172). Desta forma, esses estudos favorecem o desenvolvimento de biomarcadores robustos para uma melhor estratificação dos pacientes além da expressão fenotípica (173).

2.2.2.3 Transcriptômica

A transcriptômica analisa os níveis de expressão de todas as transcrições genéticas em uma determinada célula, em um determinado momento e em um determinado estado. A *upregulation* e a *downregulation* dos genes resultam em diferentes níveis de proteínas e metabólitos, que induzem alterações fenotípicas no indivíduo (23). Desta forma, um transcriptoma representa um fenótipo quantitativo, fornecendo contexto biológico para a compreensão das vias moleculares atingidas por processos patológicos (174).

Através do sequenciamento de RNA é possível identificar e quantificar genes codificantes e não-codificantes, além de suas isoformas de transcrição e *splicing* (174). A maior parte da variação genética associada a transtornos complexos reside em regiões não-codificantes (175). Os microRNAs (miRNAs) são os RNAs não-codificantes de aproximadamente 22 nucleotídeos de comprimento que atuam na regulação da expressão gênica pós-transcricional, e tem sido mais consistentemente estudados em psiquiatria, com papel importante na regulação da plasticidade neural e do funcionamento do cérebro (176). A compreensão sobre como atuam os miRNAs na depressão ainda está em seu estágio inicial. Entretanto, estudos pré-clínicos e clínicos já sugerem que os miRNAs podem desempenhar um papel crítico no desenvolvimento de distúrbios relacionados ao estresse como o TDM (177).

Os possíveis produtos da transcrição genética mostram heterogeneidade substancial entre as diferentes células, tecidos e estágios de desenvolvimento humano e são frequentemente altamente específicos para cada espécie (limitando estudos em modelo animal) (178,179). A replicabilidade de estudos de transcriptômica, até o momento, é insuficiente, possivelmente por diferenças metodológicas e estatísticas, tamanhos de amostras reduzidos, falsos positivos e pela natureza inerente dinâmica e específica de cada célula na sua expressão genética. Além disso, a heterogeneidade clínica tem sido reconhecida como um importante fator limitante para a caracterização robusta de alterações na expressão gênica no TDM (180).

2.2.2.4 Proteômica

Proteômica é o estudo de qualquer proteína expressa por uma determinada célula, tecido ou organismo em um determinado momento, sob condições conhecidas e determinadas, como a modificação de uma proteína ou conjunto de proteínas por mecanismos celulares que variam sob a influência de certos fatores internos e ambientais (27,29). O “proteoma” pode ser definido como o conteúdo global de proteínas em uma célula, podendo ser caracterizado em relação à sua localização, interações e modificações em um determinado momento. Estudos de proteômica também podem ser utilizados para identificar novas proteínas, e modificações pós-traducionais, que alteram a atividade, a localização e as interações com outras proteínas (181). Os estudos de proteômica podem ser divididos em: análises de expressão (análise proteômica quantitativa e qualitativa), funcionais (análise das propriedades funcionais de proteínas individuais e sua organização em subestruturas, complexos e redes) e proteômica clínica (identificação de biomarcadores e mecanismos de doenças) (182).

As flutuações no nível de expressão gênica podem ser determinadas através de análises transcriptômicas e proteômicas, buscando diferenças entre dois estados biológicos de uma célula. Proteínas executam diversas funções biológicas, e os seus níveis não dependem apenas dos níveis correspondentes de RNA transcrito, mas também do controle e regulação da tradução proteica do indivíduo (183). A análise do proteoma fornece uma descrição completa das informações estruturais e funcionais da célula, bem como seu mecanismo de resposta contra vários tipos de estresse e drogas. Desta forma, a proteômica pode ser considerada a análise dos dados mais relevantes para a caracterização de um sistema biológico (184).

Análises proteômicas para podem ser utilizadas para a detecção de biomarcadores, através das seguintes etapas: (1) isolamento de proteínas de diferentes tecidos ou fluidos corporais (por exemplo, sob condições patológicas versus condições normais/controles); (2) fracionamento e separação da mistura complexa de proteínas; (3) análise das frações separadas por espectrometria de massa (MS, do inglês *mass spectrometry*); e (4) utilização de ferramentas de bioinformática e bases de dados específicas para processamento de dados (28). Dada a natureza complexa e dinâmica do proteoma, sua análise é considerada desafiadora, por apresentar uma enorme diversidade de propriedades, como variações em quantidade, tamanho molecular, hidrofobicidade e hidrofiliidade (185).

A expansão dos estudos de proteômica só foi possível graças à evolução das análises de MS através de técnicas de alto rendimento, que aumentaram a abrangência, a sensibilidade e a confiabilidade dos seus resultados (186). Para a identificação exploratória de biomarcadores de proteômica, as proteínas contidas nas amostras biológicas são fragmentadas a peptídeos, que são separados por técnicas de cromatografia líquida (187). Os peptídeos ionizados resultantes

são analisados pela MS por suas relações carga/massa para calcular os pesos moleculares das proteínas (183,188). Como as massas e sequências dos peptídeos são únicas, o resultado apresenta alta especificidade e acurácia (189). A última etapa do processo consiste na análise dos dados obtidos por técnicas de bioinformática, que possibilitam identificação, categorização e quantificação das proteínas contidas nas amostras. A integração destes resultados com bases de dados pode fornecer mais informações sobre as funções biológicas e interações entre as proteínas. Cada etapa pode ser realizada através de diferentes métodos, e as diferentes combinações de metodologias resultam em uma variedade de informações sobre os diversos estados proteicos (188).

Após a identificação exploratória de proteínas e peptídeos que possam atuar como biomarcadores, é necessário validar estes achados utilizando técnicas com maior sensibilidade e especificidade. Os testes de ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) são imunoenaios altamente específicos amplamente utilizados para fins diagnósticos (190). Eles também são considerados métodos de análises proteômicas, e podem ser utilizados para quantificar uma ou algumas proteínas específicas, consolidando-as como biomarcadores (30). Também é possível validar biomarcadores utilizando imunoenaios de *western blotting*, com alto poder para detecção de proteínas de baixa abundância (191). Mais recentemente, também têm sido utilizados os ensaios *multiplex*, que permitem a quantificação de múltiplas proteínas em amostras individuais de pequeno volume. Esta tecnologia utiliza microesferas codificadas por corantes, revestidas com reagentes de captura específicos (anticorpos e/ou aptâmeros baseados em DNA) que podem se ligar a várias proteínas/peptídeos dentro de uma única amostra biológica (192).

2.2.2.5 Metabolômica

Os metabólitos são substratos ou produtos de um metabolismo que estão presentes em células, tecidos e fluidos, atuando em funções celulares essenciais, como produção e armazenamento de energia, transdução de sinal e apoptose. Além de serem produzidos diretamente pelo organismo, os metabólitos podem ser produzidos a partir de microrganismos, de fontes dietéticas e outras fontes exógenas (193). A metabolômica é definida como “a aferição quantitativa da resposta metabólica multiparamétrica dinâmica de sistemas vivos a estímulos fisiopatológicos ou modificações genéticas” (194). Com uma proposta similar à proteômica, técnicas de metabolômica visam preencher a lacuna entre genótipo e fenótipo, permitindo o monitoramento simultâneo de diversas moléculas em um sistema vivo (23).

As funções bioquímicas dos metabólitos são altamente diversas. Eles podem regular mecanismos de epigenética, mantendo a pluripotência de células tronco embrionárias (195). Já metabólitos como ATP, acetil-Coenzima A, NAD⁺ e S-adenosil metionina podem atuar como co-substratos, regulando modificações pós-traducionais que interferem na atividade proteica (196,197). Além disso, ácidos graxos e hormônios podem interagir com proteínas plasmáticas, possibilitando seu transporte na corrente sanguínea (198). As interações entre metabólitos e proteínas também podem auxiliar na facilitação de respostas celulares, iniciando cascatas de sinalização e influenciando na transdução de sinal (139).

Diferente de técnicas que quantificam DNA, RNA e proteínas, na metabolômica não há “blocos” de construção equivalentes, como ácidos nucleicos ou aminoácidos, o que gera uma diversidade química dos metabólitos que torna seu estudo particularmente desafiador (30). Para que possam ser integrados como biomarcadores, e contribuam para a expansão da compreensão dos mecanismos envolvidos no TDM, os metabólitos precisam ser colocados em seu contexto biológico, identificando seus papéis nas vias metabólicas, suas interações com outros metabólitos e suas relações com genes e proteínas. Técnicas computacionais podem auxiliar na correlação entre os diversos níveis de ômicas, gerando e testando hipóteses (199).

2.2.3 Biologia de Sistemas

A quantidade de informação obtida a partir de estudos “ômicos” é gigantesca, e segue em constante expansão. Entretanto, para que possam atingir o estágio de aplicabilidade clínica, estes dados precisam antes ser organizados, analisados e contextualizados, para que possam ser validados e replicados por outros estudos (200). São necessárias ferramentas e metodologias computacionais para identificar, quantificar e processar estes dados de forma confiável (201). Somada a estas necessidades, a disponibilidade dessas informações em bases de dados virtuais gera a oportunidade de estudar doenças complexas através de técnicas de biologia de sistemas (202).

A biologia de sistemas é o estudo das interações moleculares em diferentes níveis, permitindo a identificação e caracterização da maquinária subcelular que constitui as unidades operacionais funcionais em células, tecidos e sistemas de órgãos, resultando em comportamentos fisiológicos (32). Ela é considerada uma ciência de informação, e não apenas investiga sistemas biológicos inteiros, mas também as suas interações com o ambiente (203). Utilizando análises matemáticas, estatísticas e computacionais é possível analisar a arquitetura estática desses sistemas, mas também caracterizar como seus componentes interagem ao longo

do tempo em resposta a estímulos (204–206). Desta forma, tem se tornado possível entender como os fenótipos são gerados a partir de seus genótipos (207).

A integração de dados experimentais de estudos “ômicos” com modelos computacionais têm possibilitado a compreensão de como as interações entre componentes moleculares podem dar origem a comportamentos funcionais, quando individualmente eles não seriam capazes (26). A biologia de sistemas não integra apenas entidades moleculares na mesma escala, mas também em diferentes escalas. As principais estratégias para compreender os mecanismos de algum processo patológico são a avaliação das mudanças nas moléculas estudadas (como ncRNAs, proteínas e metabólitos) nos tecidos afetados ao longo da progressão da doença, e a análise de como a dinâmica das redes de interações se correlaciona com a etiologia e progressão da doença (200).

Transtornos psiquiátricos apresentam fenótipos complexos, causas heterogêneas e uma natureza poligênica. Tais fatores dificultam a sua compreensão, mas possibilitam que esses transtornos sejam estudados através de ferramentas da biologia de sistemas (208). No caso do TDM, elas podem ser utilizadas para desvendar as interações não-lineares complexas entre as moléculas, vias, fatores desencadeantes e mecanismos de transtornos comórbidos, além de identificar quais alterações nessas estruturas poderiam levar à depressão, e desenvolver modelos matemáticos para delinear a assinatura molecular da doença, visando a identificação de novos biomarcadores no TDM (99). A partir dessa compreensão, seria possível desenvolver estratégias preventivas e terapêuticas adaptadas aos tipos específicos de riscos e vias causais. Agentes terapêuticos agindo em moléculas e reguladores centrais seriam provavelmente mais eficazes na neutralização da patogênese da doença na população geral, ao mesmo tempo que alterações moleculares específicas de cada indivíduo poderiam direcionar estratégias personalizadas de prevenção e tratamento. As diversas vias conectadas nas redes de interações também poderiam orientar a seleção de estratégias de tratamento combinado e potencialização com medicamentos direcionados a diferentes vias (200,209). Até o momento, as principais estratégias de biologia de sistemas que têm sido aplicadas ao TDM são as análises de enriquecimento de conjuntos de genes e a visualização de redes de interações (208,210,211).

2.2.3.1 *Gene Set Enrichment*

A análise do enriquecimento de conjuntos de genes (GSEA, do inglês *gene set enrichment analysis*) é um método estatístico utilizado para identificar componentes moleculares potencialmente responsáveis por fenótipos e funções, com base nos elementos

moleculares diferencialmente expressos em amostras biológicas. Considerando que as ações de genes individuais têm tamanhos de efeito muito pequenos, que podem não atingir significância estatística ou relevância clínica, e que as funções biológicas ocorrem através da articulação de vários elementos em um sistema, esta análise se baseia em conjuntos de genes (212). Estes conjuntos representam genes que compartilham entre si alguma função biológica, localização cromossômica ou mecanismo de regulação. Eles são definidos a partir de conhecimentos biológicos prévios, como dados encontrados na literatura sobre vias bioquímicas e dados experimentais de co-expressão (213).

Através desta técnica de biologia de sistemas, os elementos moleculares identificados como diferencialmente expressos nos estudos “ômicos” podem ser “enriquecidos” com informações derivadas de ontologias específicas (34). Uma ontologia é um conjunto de termos estruturados com relacionamentos específicos, que descrevem os elementos e relações em um domínio de interesse, em um formato computável hierarquicamente estruturado (do mais geral ao mais específico), o que permite seu uso em múltiplas aplicações (214). Tais elementos contidos em ontologias são disponibilizados para utilização como eixos em torno dos quais os dados podem ser organizados, indexados, agregados e interpretados, através de vários serviços, bases de dados e aplicações diferentes (215). Nos estudos “ômicos”, a maior base de dados utilizada como referência é a de ontologia de gene (GO, do inglês *gene ontology*), que possibilita a identificação das funções e locais relacionados aos elementos diferencialmente expressos (216,217).

O *Gene Ontology Project* é uma ferramenta computacional abrangente de informações sobre as funções dos genes e seus produtos em diversos organismos diferentes (218). Esta base de dados é dividida em dois componentes principais: a própria GO, que representa a estrutura lógica das funções biológicas (“termos”) e suas relações entre si, e as anotações de GO, declarações baseadas em evidências que relacionam um produto genético específico (uma proteína, ncRNA ou complexo macromolecular) a um termo de GO específico. A combinação de informações de todos os organismos num repositório central torna possível integrar conhecimentos de diferentes bases de dados, inferir a funcionalidade de genes recentemente descobertos e obter informações sobre a conservação e variações de subsistemas biológicos (216).

A GO é um vocabulário padronizado de termos para representar a biologia de forma estruturada e hierárquica. Os termos são subdivididos em três ontologias distintas que representam diferentes aspectos biológicos: Função Molecular (MF, do inglês *Molecular Function*), Componente Celular (CC) e Processo Biológico (BP, do inglês *Biological Process*)

(219). MFs são processos que podem ser realizados pela ação de um único complexo macromolecular, por meio de interações físicas diretas com outros elementos moleculares. Assim, ‘função’ denota uma ação ou atividade que um produto genético executa. Os CCs descrevem localizações (relativas aos compartimentos e estruturas celulares) ocupadas por complexos macromoleculares quando desempenham as MFs. Diferente dos outros aspectos do GO, seus conceitos não se referem a processos, mas sim à anatomia celular do organismo. Os BPs representam objetivos específicos que o organismo é geneticamente “programado” para alcançar, sendo geralmente descritos pelos seus resultados ou estados finais. Cada BP é executado por um conjunto particular de processos moleculares derivados de produtos genéticos específicos, frequentemente de forma altamente regulada e em sequência temporal específica. BP é o maior dos três aspectos ontológicos na GO, e também o mais diverso, refletindo a multiplicidade de níveis de organização biológica nos quais as funções geneticamente codificadas podem ser identificadas. No modelo proposto pela GO, um gene codifica um produto gênico, que realiza um processo ou atividade em nível molecular (MF) em um local específico em relação à célula (CC), contribuindo para um objetivo biológico maior (BP) composto por múltiplos processos em nível molecular (218).

As anotações de GO consistem da associação entre um gene e um termo de GO, representando uma das principais formas de atribuir informações funcionais usando vocabulário padronizado (23,217). O principal componente de cada anotação é o objeto, ou seja, a entidade associada a um termo de GO: um gene, uma proteína, um ncRNA, um complexo macromolecular ou outro produto genético. Cada objeto é classificado quanto ao seu tipo de molécula e de termo, contendo também nome (e sinônimos), código identificador na base de dados de origem e seus especificadores e qualificadores. Logo, cada anotação é única. Todas as anotações são baseadas em evidências, como referências de publicações (experimentais) ou descrições das metodologias utilizadas para criar as anotações (não experimentais: inferências por similaridade estrutural, por contexto genômico, análises filogenéticas, entre outras). Desta forma, todas as anotações de GO são apoiadas pela literatura científica, direta ou indiretamente (216).

As GSEAs também podem ser combinadas com outras ferramentas de bioinformática, ampliando conhecimentos sobre mecanismos biológicos, como as vias de sinalização que regulam os fenótipos específicos analisados (34). As informações obtidas sobre a expressão genética e as interações entre seus produtos fornecem evidências da complexidade da cooperação molecular nas células durante o desenvolvimento e curso de doenças complexas (220). Além de sequências lineares de eventos, através da integração destas informações com

dados provenientes de diferentes análises, como proteômica e metabolômica, é possível construir, analisar e visualizar redes moleculares funcionais capazes de ilustrar de forma mais fidedigna a complexidade de sistemas biológicos e suas perturbações (221,222).

2.2.3.2 *Redes de Interação*

Uma grande quantidade de dados brutos se originou a partir da popularização dos estudos “ômicos” em psiquiatria (211,223). Entretanto, é necessário que estes dados sejam contextualizados, explorando as causas e consequências que se relacionam às variações na expressão dos elementos moleculares quantificados, bem como a forma como interagem entre si (224). As análises de redes fornecem uma estrutura distinta e racional para descrever essas interações e organizar os dados disponíveis de forma simultânea, promovendo uma representação topológica que integra a lógica de sistemas complexos com dados quantitativos obtidos em larga escala a partir do estudo de condições específicas, como processos patológicos (220,225). A aplicação desta abordagem computacional aos estudos “ômicos” amplia as possibilidades de comparações e interpretações, delineando mais um caminho possível na busca por biomarcadores no TDM (226).

Redes são modelos de representação gráfica que ilustram as interações entre os seus nós. Em redes biológicas, os nós (ou vértices) são os elementos moleculares (genes, ncRNAs, proteínas, metabólitos) e as arestas representam as relações entre eles, que podem ser interações diretas ou indiretas. Um módulo é uma sub-rede de nós altamente interconectados que se conectam de forma relativamente esparsa à rede maior (208). Considera-se que redes moleculares tenham uma arquitetura “sem escala”, na qual a maioria dos nós tem apenas algumas conexões com outros nós (nós periféricos), enquanto uma pequena proporção dos nós tem um alto nível de conectividade e está localizada no centro da rede (“*hubs*”) (25). Outras características topológicas também são importantes na interpretação de modelos de redes moleculares. O grau de um nó é definido pela quantidade de arestas adjacentes a ele, ou pelo número de nós vizinhos com os quais interage diretamente. Menor caminho é o nome dado à menor distância disponível entre dois nós específicos, e a intermediação de um nó é definida como a quantidade de menores caminhos que o atravessam (210). A perturbação de uma rede, descrita como a remoção de alguns dos seus nós, pode ser utilizada para mensurar a resistência da rede a mudanças, também chamada de robustez. Redes sem escala são consideradas robustas à perturbação aleatória dos seus nós (em maioria periféricos), porém frágeis quando há perturbação de *hubs* (221). A observação destas propriedades em redes moleculares pode ser

uma peça fundamental para entender como ocorrem os processos de adoecimento em um sistema, e além de direcionar a busca de biomarcadores e guiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas (34,225).

Estudos aplicando redes de interação a transtornos psiquiátricos já são uma realidade, porém ainda em estágios iniciais. As redes de genes reguladores focam em elucidar as interações gene-gene e suas relações regulatórias, organizando genes com base em *clusters* de co-expressão ou causalidade inferida, e pares regulatórios (25). Já nas redes de interação proteína-proteína (RIPPs), os nós são proteínas e as arestas representam as interações físicas entre elas, baseando-se em bases de dados experimentais (como o STRING) ou simulação computacional. As arestas não são direcionadas e as medidas ponderadas das arestas indicam a confiabilidade de cada interação (227). As redes de revisão de literatura são construídas a partir de conhecimentos gerais, como bancos de dados de anotações de vias/funções/genes, e análises textuais da literatura existente e de dados experimentais, buscando identificar genes que contribuam para funções biológicas específicas (228). Por fim, redes híbridas combinam e integram informações de dois ou mais tipos de redes diferentes, explorando os pontos fortes e compensando as desvantagens e limitações de cada tipo para produzir um resumo mais abrangente dos objetos em estudo (229).

Moléculas no mesmo módulo têm maior probabilidade de interagir e/ou desempenhar papéis na mesma função biológica (230). Quando um módulo é identificado em redes moleculares, ele também pode ser caracterizado funcionalmente, utilizando técnicas bioinformática, de acordo com as funções já conhecidas das moléculas contidas nos módulos, ou experimentalmente através da manipulação genética dos componentes do módulo (208). Arestas não-direcionadas representam a interação entre os nós sem especificar a hierarquia, enquanto as arestas direcionadas caracterizam não apenas a interação entre os nós, mas também a direção da propagação do sinal e da hierarquia (34). Neste contexto, direcionalidade é equivalente a causalidade. Para poder determinar esta orientação, é necessário integrar diferentes tipos de dados (genômica, epigenômica, transcriptômica, proteômica e/ou metabolômica) em uma rede híbrida. O uso de vários tipos de dados pode compensar por informações faltantes ou problemáticas em algumas das amostras utilizadas, e a convergência de evidências de dois ou mais tipos de dados torna as descobertas mais robustas (231,232).

Acredita-se que genes com funções semelhantes interagem entre si mais estreitamente nas RIPPs do que genes não-relacionados funcionalmente (233). Diversas evidências corroboram a hipótese de que transtornos psiquiátricos complexos, como o TDM, são ocasionadas por genes funcionalmente relacionados (como por vias ou complexos proteicos)

através de sua interação e regulação dinâmicas, em oposição às teorias mais antigas postulando que poderiam ser causadas por um único gene (234–236). A união destes conceitos sugere que análises e comparações sistemáticas de genes potencialmente associados a estas doenças em redes de interação poderia ampliar o conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, incluindo aqueles que não poderiam ser identificados através da análise de um único gene ou biomarcador (210,237).

3 JUSTIFICATIVA

O Transtorno Depressivo Maior é um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes, e representa uma das principais causas de incapacidade no mundo. A perda de funcionalidade induzida pela depressão acarreta em prejuízos psíquicos, mas também laborais, sociais, afetivos e financeiros. Dada a sua magnitude, já foi extensivamente estudada pela ciência ao longo dos séculos. Foram propostas diversas hipóteses sobre a sua fisiopatologia, e muitas se complementam entre si. Entretanto, seus exatos mecanismos ainda não foram inteiramente elucidados. Sua própria classificação fenomenológica é incerta, pois a heterogeneidade entre as suas apresentações sugere que talvez se trate de vários transtornos diferentes com sintomas em comum, dificultando ainda mais a sua compreensão. Esta se faz necessária para a definição do tratamento mais adequado a cada caso, pois, apesar da ampla variedade de opções farmacológicas, psicoterapias, intervenções psicossociais e métodos de tratamento intervencionista, uma parcela significativa dos pacientes apresenta sintomas refratários e crônicos. Também são pouco conhecidos os fatores que influenciam quem poderá se beneficiar ou não de quais tratamentos, o que pode prolongar a morbidade da doença ao submeter os pacientes a sucessivas tentativas falhas de tratamento, nunca isentas de efeitos adversos deletérios. Logo, para que sejam desenvolvidas alternativas terapêuticas mais eficazes, e para que sejam mais conhecidos os preditores de resposta aos tratamentos, é necessário buscar novas estratégias que auxiliem na compreensão dos mecanismos envolvidos na ocorrência do Transtorno Depressivo Maior, em todas as suas variadas formas de apresentação.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Identificar proteínas e processos biológicos envolvidos no TDM através de técnicas de biologia de sistemas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os principais processos biológicos relacionados às proteínas diferencialmente expressas no sangue de pacientes com TDM, quando comparados a controles saudáveis.
- Criar redes de interação proteína-proteína a partir da lista de proteínas diferencialmente expressas no sangue de pacientes com TDM, expandindo-as utilizando bases de dados contendo suas interações com outras proteínas (interactomas), incluindo aquelas não mensuradas por métodos de proteômica.
- Analisar as redes de interação proteína-proteína, buscando identificar potenciais proteínas centrais aos mecanismos fisiopatológicos que não sejam diretamente mensuradas pelas atuais técnicas de proteômica.
- Correlacionar os resultados encontrados com a literatura, buscando validar as técnicas de biologia de sistemas no estudo do TDM.

5 MÉTODOS

5.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Para esta revisão, foram selecionados apenas artigos originais reportando achados de proteômica no sangue de indivíduos com TDM, de acordo com os seguintes critérios de inclusão:

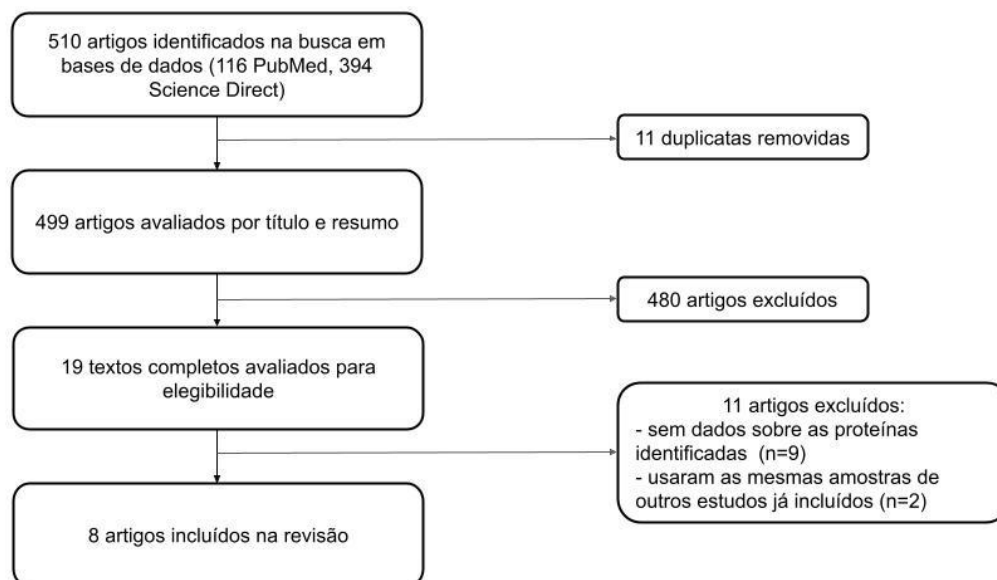
- Estudos incluindo sujeitos adultos (acima de 18 anos), com diagnóstico de Transtorno Depressivo Maior pelos critérios diagnósticos do DSM-IV, DSM-IV-TR, DSM-V ou CID-10;
- Estudos comparativos avaliando níveis de proteínas no sangue periférico (plasma ou soro) de pacientes com TDM e de controles saudáveis;
- Estudos avaliando níveis de proteínas em pacientes com TDM com ou sem tratamento;
- Estudos utilizando técnicas de espectrometria de massa (MS) ou análise imunoensaio multiplex de proteínas (MAP) para identificar a expressão de proteínas usando apenas indivíduos saudáveis como controles.

5.2 ESTRATÉGIAS DE BUSCA E SELEÇÃO DE ARTIGOS

A busca foi realizada em agosto de 2023 nas bases de dados PubMed e Science Direct, utilizando os seguintes termos: Proteomic"[All Fields] AND ("Serum"[All Fields] OR "plasma"[All Fields] OR "Blood"[All Fields]) AND ("Depressive disorder"[All Fields] OR "Depression"[All Fields] OR "psychiatric illness"[All Fields]). A busca nas bases de dados identificou um total de 510 resultados (Figura 1). Resumos e métodos dos estudos foram analisados através da plataforma *Rayyan*. Após a exclusão de 11 duplicatas, foram excluídos 480 artigos que utilizavam amostras de tecidos sólidos, urina, saliva e líquido cefalorraquidiano; artigos contendo apenas técnicas metabolômicas, genômicas e transcriptômicas; artigos baseados em estudos em modelos animais; artigos sem grupo controle; artigos de revisão, editoriais, cartas ao editor e resumos em anais de eventos. No total, foram identificados 19 artigos que avaliaram proteínas diferencialmente expressas no soro ou plasma de indivíduos com TDM. Destes, 9 foram excluídos por não apresentarem na publicação dados referentes a quais proteínas foram identificadas, e estes dados não serem disponibilizados após tentativas de contato por email com os autores. Dois foram excluídos por utilizarem os mesmos dados já

contidos em outros artigos selecionados. Por fim, foram incluídos 8 artigos na revisão (238–245).

Figura 1 – Processo de seleção dos artigos



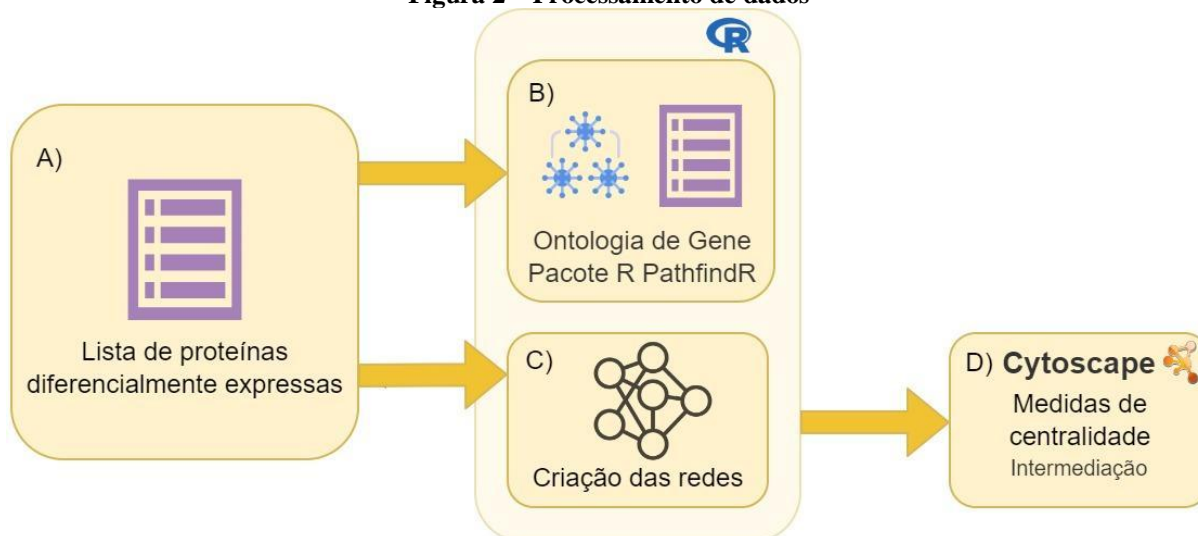
5.3 EXTRAÇÃO DE DADOS

Para extrair os dados dos estudos originais, foram criadas planilhas de extração de dados contendo: número ID da proteína (*Universal Protein* - UniProt), símbolo do gene na *Human Genome Organization* (HUGO), nome da proteína, nome do estudo que identificou a proteína, tipo de amostra (soro ou plasma), tamanho da amostra, tipo de técnica de proteômica utilizada, alteração identificada na expressão (aumento/redução), valor de *fold-change* (magnitude da alteração em relação aos valores de normalidade) e valor de *p*.

5.4 ONTOLOGIA DO GENE

O pacote *pathfindR* versão 1.5 para o software R foi aplicado à lista de proteínas diferencialmente expressas para encontrar termos de GO associados às proteínas diferencialmente expressas em pacientes com TDM (246). Os termos da GO descrevem as funções dos produtos da expressão de genes, separando-as em três subtipos: função molecular, componente celular e processo biológico (247). O procedimento é ilustrado na figura 2.

Figura 2 – Processamento de dados

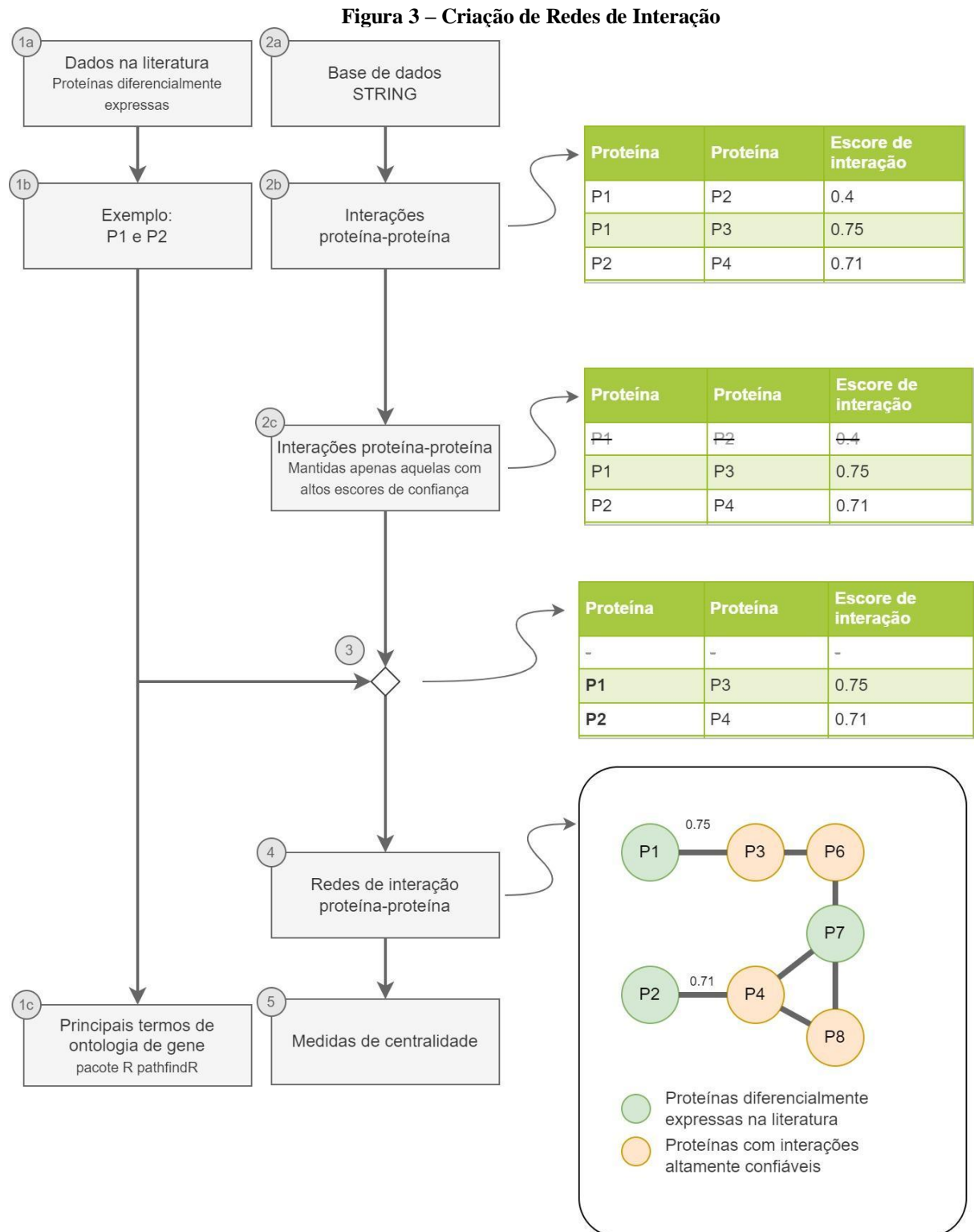


A) Proteínas diferencialmente expressas no TDM identificadas na revisão. B) Termos de ontologia de gene encontrados utilizando o pacote R pathfindR com base nas proteínas identificadas. C) Uma rede de interação proteína-proteína foi criada no R com base nas proteínas identificadas e nas interações do banco de dados STRING. D) Métricas de centralidade (intermediação) foram calculadas no Cytoscape.

5.5 REDES DE INTERAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA

A partir da lista de proteínas diferencialmente expressas identificadas nos estudos selecionados, foram criadas redes de interações proteína-proteína, que foram expandidas de acordo com suas interações com outras proteínas. Para isso, dados referentes a estas interações proteína-proteína foram obtidos através da base de dados STRING (www.string-db.org), que contém dados de interação proteína-proteína de fontes primárias, interações previstas e alguns tipos de evidências de interações (227). O banco de dados extraído do STRING foi importado para o software R 4.0.2 (interface *R Studio* versão 1.2) (248). Um escore de confiança foi calculado a partir de escores do banco de dados, de experimentos e de pontuações de coexpressão. As interações com escores de confiança inferiores a 7.0 foram removidas, mantendo apenas interações com altos escores de confiança. Um script de R foi utilizado para criar as redes, buscando as cinco interações mais confiáveis para cada proteína diferencialmente expressa (disponível em <https://osf.io/qjt8a/>). Após a criação de várias pequenas redes, o algoritmo obtém as cinco conexões mais confiáveis para cada uma das proteínas (Figura 3). Em seguida, o processo é repetido para a consolidação da rede. Desta forma, são incluídas nas redes as interações proteína-proteína de 1º grau a partir daquelas identificadas inicialmente pelos estudos. O programa Cytoscape (versão 3.8) foi utilizado para visualização das redes e cálculo

das medidas de centralidade (249). Um plugin para este programa, chamado stringApp (versão 1.5) foi usado para obter mais dados sobre as proteínas da rede (250).



1a) Identificação de proteínas diferencialmente expressas. 1b) Por exemplo, P1 e P2 representam duas proteínas diferencialmente expressas. 1c) As proteínas diferencialmente expressas foram inseridas no pathfindR, para identificação dos principais termos de oncologia de gene associados. Criação do conjunto de dados de interações

proteína-proteína (2a – 2c): 2a) Um banco de dados com interações proteína-proteína foi baixado do STRING. 2b) O banco de dados foi importado para R. 2c) Em seguida, foram excluídas interações com índice de confiança inferior a 0,7. 3) P1 e P2 foram mapeados em um conjunto de dados contendo interações proteína-proteína. 4) As interações proteína-proteína foram criadas com base em escores de interações com alta confiança. Proteínas vizinhas de até um grau foram selecionadas (proteínas em laranja na ilustração da etapa 4). 5) As medidas de centralidade foram calculadas no Cytoscape.

6 ARTIGO

The relevance of endoplasmic reticulum lumen and Anoctamin-8 for major depression: results from a systems biology study.

Sofia Cid de Azevedo^{1,2*}, Jacson Gabriel Feiten^{1,2*}, Marcelo P. Fleck^{1,2}, Marco Antonio Caldieraro^{1,2}

1 Laboratório de Psiquiatria Molecular, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

2 Programa de Pós Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

ABSTRACT

Introduction: Major depressive disorder (MDD) is a highly prevalent and debilitating disorder, yet its pathophysiology has not been fully elucidated. The aim of this study is to identify novel potential proteins and biological processes associated with MDD through a systems biology approach. **Methodology:** Original articles involving the measurement of proteins in the blood of patients diagnosed with MDD were selected. Data on the differentially expressed proteins (DEPs) in each article were extracted and imported into R, and the pathfindR package was used to identify the main gene ontology terms involved. Data from the STRING database were combined with the DEPs identified in the original studies to create expanded networks of protein-protein interactions (PPIs). An R script was developed to obtain the five most reliable connections from each DEP and to create the networks, which were visualized through Cytoscape software. **Results:** Out of 510 articles found, eight that contained all the values necessary for the analysis were selected, including 1112 adult patients (67.8% female) with MDD and 864 (62.2% female) controls. A total of 240 DEPs were identified, with the most significant gene ontology term being “endoplasmic reticulum lumen” (46 DEPs, $p\text{-value} = 5.5 \times 10^{-13}$). An extended PPI network was obtained, where Anoctamin-8 (ANO8), which was not identified by the proteomic studies, was the most central protein. **Conclusion:** The use of systems biology contributed to the interpretation of data obtained in proteomic studies on MDD and expanded the findings of these studies. The combined use of these methodologies can provide new insights into the pathophysiology of psychiatric disorders, identifying novel biomarkers to improve diagnostic, prognostic, and treatment strategies in MDD.

Keywords: depression, proteomics, systems biology

Artigo submetido para publicação na revista *Molecular Psychiatry* (Anexo A).

Introduction

Biological research has demonstrated that Major Depressive Disorder (MDD) is associated with inflammatory, metabolic, neuroplastic, and genetic factors [1]. However, the current understanding of MDD's pathophysiology remains limited, with many underlying mechanisms still elusive. Further understanding of this pathophysiology is necessary to develop new and more efficient treatments and identify clinically useful biomarkers.

Many attempts have been made to identify biomarkers related to MDD, and while some progress has been achieved, the entire chain of events leading to depressive symptoms remains uncovered [2]. Biomarkers have not yet proven clinically helpful in confirming diagnosis, assessing severity, or guiding treatment in MDD. Proteomics represents a promising tool for understanding depression's pathophysiology by quantifying proteins in biological samples such as blood, cerebrospinal fluid, or urine, using techniques like mass spectrometry, immunoassays, or two-dimensional gel electrophoresis. Proteomic studies exhibit considerable heterogeneity in terms of identified differentially expressed proteins, samples, and methodologies, although they often converge on common pathways or interacting proteins [3].

Several reviews have addressed this issue and suggested various biological processes associated with depression [3–5]. Proteomic studies have highlighted growth factors like BDNF and VEGF, as well as inflammatory markers such as IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ , CRP, and TNF- α , as potential predictors of disease activity and treatment response in MDD. However, their specific roles in the development of depressive symptoms remain unclear [6].

Proteomic studies primarily focus on protein expression levels, whereas the impact of a protein on MDD may also relate to its activity level or interactions with other proteins, parameters not typically assessed by proteomic techniques [5]. Another limitation of published proteomic studies on MDD is their heterogeneity, likely influenced by differences in samples, measurement methods, and available assay kits [6].

Systems biology techniques offer new strategies for understanding complex and multifactorial diseases like psychiatric disorders [4]. Methods such as gene ontology annotations and protein-protein interaction (PPI) networks can potentially overcome some of these proteomic study limitations and provide additional insights into the biological events and interactions underlying MDD. Gene ontology annotations, sourced from comprehensive databases, provide knowledge about gene and gene product functions [7]. These biological

processes can be integrated with differentially expressed proteins identified in proteomics studies to enhance understanding of how these changes impact the patient's physiology. PPI networks allow the overlap of proteomic study results with biological interaction databases (interactomes), facilitating the identification of key interacting proteins not initially detected in screenings [8].

This study aims to identify potential proteins and biological processes associated with MDD. We reviewed proteomics studies comparing individuals with MDD to healthy controls, analyzing proteins differentially expressed in the MDD group across studies. First, we examined the primary biological processes (gene ontology terms) associated with these proteins. Subsequently, we constructed PPI networks based on proteins identified in our review, expanding these networks using interactome data to identify central proteins within the MDD network.

Materials and methods

We selected original articles reporting proteomics techniques that compared blood samples from patients diagnosed with MDD to those from healthy controls. In August 2023, a search was conducted using the terms: "Proteomic"[All Fields] AND ("Serum"[All Fields] OR "plasma"[All Fields] OR "Blood"[All Fields]) AND ("Depressive disorder"[All Fields] OR "Depression"[All Fields] OR "psychiatric illness"[All Fields]) in PubMed and Science Direct databases. The database search yielded a total of 510 results. Abstracts and methods were analyzed to identify studies that evaluated differentially expressed proteins in the serum or plasma of individuals with MDD.

We specifically focused on studies employing mass spectrometry (MS) or immunoassay multiplex analysis of proteins (MAP) to identify protein expression, with healthy subjects serving as controls. Inclusion criteria included articles reporting proteomics using blood samples from adults (over 18 years old) diagnosed with MDD according to the DSM-IV, DSM-IV-TR, DSM-V, or ICD-10 criteria, compared to blood samples from healthy controls. Exclusion criteria encompassed articles using samples from solid tissues, urine, saliva, or cerebrospinal fluid, articles focusing solely on metabolomic or genomic techniques, and articles based on animal model studies.

Data extraction

To extract data from the original studies, we developed data extraction sheets. These sheets included the following information for each study: protein ID (Universal Protein - UniProt), Human Genome Organization (HUGO) gene symbol, protein name, author(s), direction of expression change (up/down), fold-change, p-value, type of sample (serum or plasma), proteomics techniques utilized, sample size, and study design (supplementary table 1).

Gene ontology

The plugin pathfindR from R package version 1.5 was employed to analyze the list of differentially expressed proteins and identify the primary biological functions (gene ontology terms) associated with MDD [9]. Gene ontology terms categorize the functions of gene products into three main aspects: molecular function, cellular component, and biological process [10]. This process is depicted in Figure 1, with additional details provided in supplementary figure 1.

Protein-protein interaction networks

The PPI networks were constructed based on the differentially expressed proteins reported by the original studies, which were further expanded by their interactions with other proteins. These interactions were sourced from the STRING metadatabase version 11 (www.string-db.org), which integrates PPI data from primary sources, predicted interactions, and various types of evidence. [11]. The database containing these interactions was downloaded from STRING and imported into R 4.0.2 (R Studio interface version 1.2) [12]. A new confidence score was calculated based on database scores, experimental evidence, and co-expression data. Interactions with scores less than 7.0 were excluded. A R script was developed to create the networks (available at <https://osf.io/qjt8a/>). This algorithm identifies the five most confident connections for each differentially expressed protein and generates networks connecting them. Cytoscape version 3.8 was used to visualize networks [13]. The stringApp plugin version 1.5 for Cytoscape was employed to retrieve additional data about the proteins and enhance network analysis [14].

Results

Review of the literature

The initial search identified 510 articles, of which 19 involved human subjects diagnosed with depressive disorder, and included protein measurements in blood (serum or plasma) with differential expression compared to healthy controls (Figure 2). Eight of these articles provided complete data necessary for analysis, comprising a total of 1112 patients with depression (67.8% female) and 864 controls (62.2% female), all aged 18 years and older (Table 1) [15–22]. The study by Stelzhammer et al. included two distinct sets of patients and controls. One set analyzed samples using multiplex immunoassay, while the other utilized liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

The included studies identified 427 proteins differentially expressed in individuals with major depression compared to control groups (supplementary table 1). From these, a total of 240 proteins were utilized to construct the protein-protein interaction network, following the exclusion of duplicates, 13 unmapped proteins, and 35 proteins lacking interactions with other proteins (supplementary information). Among the studies, three involved patients receiving pharmacological treatment, while five studies specifically included drug-free individuals with major depression. The majority of studies utilized serum samples for protein analysis. Notably, one study focused on late-life depression [16], and another concentrated on recurring depression [17]. Different methods were employed across studies for protein separation and identification: multiplex assay or liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

Differentially expressed proteins

Significant heterogeneity was observed among the studies regarding proteins that were differentially expressed between patients with major depression and controls. Out of the 240 proteins identified, 192 (80%) proteins were found by one study, 39 (16 %) by two different studies, and 6 (2.5 %) by three studies. Specifically, Macrophage Inhibitor Factor (MIF), Von Willebrand factor (vWF), and Lipoprotein(a) (LPA) were each identified by four different studies (Table 2). No proteins were found in more than four of the eight included studies.

Gene ontology terms

The most significant gene ontology term associated with the DEPs in MDD was found to be endoplasmic reticulum (ER) lumen (Table 3). Nine biological processes related to lipid metabolism and lipoproteins were identified, along with four processes directly linked to coagulation.

Among the proteins found to be differentially expressed in multiple studies, APOA1 participates in 10 out of the 15 most significant processes. LPA is involved in serine-type endopeptidase activity and endopeptidase inhibitor activity. VWF plays a role in platelet degranulation and platelet alpha granule lumen.

Protein-protein interaction network (PPIN)

The PPINs created contain 240 differentially expressed proteins reported in the original studies and an expanded network totaling 755 proteins, including those with relevant interactions according to String metadata database version 11. The largest PPIN comprises 378 nodes and 469 edges, with 141 of these nodes representing differentially expressed proteins (see supplementary figure 2). Within this network, Anoctamin-8 (ANO8) is connected to seven differentially expressed proteins found in the blood of depressed individuals (Figure 3). Among these connections, follistatin-related protein 1 (FSTL1), albumin (ALB), and Cystatin-C (CST3) were found to be underexpressed. In contrast, galactin-1 (LGALS1), Insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP3), Insulin-like growth factor-binding protein 1 (IGFBP1), and complement C3 (C3) were overexpressed. C3, IGFBP1, IGFBP3, ALB, CST3, and FSTL1 are also related to the endoplasmic reticulum lumen and cellular protein metabolic processes.

Additionally, smaller PPINs not connected to the main network, consisting of two to nine nodes each, were created by the procedure (supplementary figure 3). However, only the largest network was utilized to calculate betweenness centrality, a global centrality metric deemed more suitable for evaluation within the main network context.

Discussion

Despite the extensive research on the subject, the pathophysiology of depression remains elusive. Through the application of systems biology, we have identified the most significant gene ontology terms associated with the proteins differentially expressed in depressed individuals according to proteomic studies. A majority of these proteins are localized in the endoplasmic reticulum lumen and are involved in biological processes related to lipid metabolism and coagulation pathways. Furthermore, we created an expanded PPIN based on proteins differentially expressed in individuals with MDD. Through this approach, we have identified ANO8 — a protein not previously detected by proteomic studies in peripheral blood — as the most central protein in the PPIN.

Differentially Expressed Proteins

The proteomic studies included in our analysis revealed a highly heterogeneous set of proteins differentially expressed in depression. Interestingly, for the majority of these proteins, findings from one study were not replicated in any of the others. The most consistent results were observed for MIF, vWF, and LPA, which are related to the HPA-axis and immune and inflammatory mechanisms and were each reported as differentially expressed by four studies. While MIF and vWF were consistently upregulated, LPA showed a mixed pattern of expression, being reported as upregulated in three studies and downregulated in one.

MIF, a cytokine of innate immunity known for its role in increasing leukocytes, neutrophils, and monocytes, as well as upregulating T and B lymphocytes, has previously been linked to depression by Musil et al. [23]. As a proinflammatory cytokine induced by HPA-axis activation, it is also associated with chronic inflammation in conditions such as obesity and diabetes mellitus, as well as MDD and cardiovascular events [24, 25]. There is evidence suggesting that MIF levels decrease with antidepressant therapy and psychotherapy [26, 27]. However, an article by Conboy et al. [28] indicates that the complete absence of MIF in animal models can be detrimental, potentially leading to reduced hippocampal neurogenesis.

Von Willebrand Factor, induced by acute stress, is known to increase procoagulant activity [29]. As a marker of endothelial dysfunction, it was found to be increased in a control-matched sample of 12 individuals with MDD and gradually decreased with SSRI treatment [30]. Similar to MIF, vWF also influences macrophage and leukocyte recruitment while facilitating platelet adhesion in stress situations [31]. Numerous links have been established between MDD and alterations in coagulation. More recently, Yang et al. [32] suggested an association between hyperactivation of the extrinsic pathway and suicide attempts in MDD patients when compared to MDD patients with no attempts.

LPA is primarily recognized for its pro-atherogenic and pro-thrombotic effects. Elevated levels of LPA significantly increase the risk of atherothrombotic cardiovascular disease [33]. LPA has been associated with vascular risk in MDD, bipolar depression, and schizophrenia [34]. A more specific correlation has been made by Hamidifard et al. [35], in which increasing levels of LPA were associated with higher scores in the Beck Depression Inventory.

The changes in the expression of these proteins may partially explain the link between depression and cardiovascular disease. Depressive symptoms are an independent risk factor for cardiovascular events, with a stronger interaction observed in patients with high metabolic risk [36, 37]. This association is bidirectional, as depressive episodes often complicate recovery following a cardiovascular event [38, 39] and also represent a risk factor for subsequent cardiovascular events and all-cause mortality [40].

Gene Ontology

Regarding biological functions, the primary gene ontology term associated with proteins differentially expressed in MDD was “endoplasmic reticulum lumen”. One of the main roles of the ER is to properly fold the synthesized proteins before their delivery to the cytoplasm. This folding process can be disrupted by various external factors, leading to an imbalance between the cell's demand for ER function and its capacity, a condition known as "ER stress" [41]. During ER stress, the cell activates the ER stress response as a mechanism to reduce and ideally halt the delivery of unfolded proteins, thereby maintaining cellular integrity in response to stressors such as glutamate-mediated excitotoxicity [42]. According to Mao et al. [43], the ER stress response is continuously activated in MDD, potentially leading to intracellular accumulation of reactive oxygen species (ROS) and calcium ions (Ca⁺⁺), which in turn can induce apoptosis [44]. It is also known that activation of BDNF-trkB signaling acts to reduce ER stress-induced apoptosis, however the exact mechanisms in these pathways have not yet been fully elucidated [45, 46]. Conversely, a recent co-expression network analysis in MDD patients found that activated pathways involved in protein processing in the ER specifically correlated with recurrent-type MDD in older adults [47]. Animal models and in vitro studies have indicated that antidepressants may reduce biomarkers associated with the ER stress response, potentially reversing this pathological process [48, 49].

In addition, many stages of lipid metabolism were represented in the most significant GO terms, reaffirming its association with depression. Lipids can influence the localization and function of proteins in neuronal cell membranes, affecting intracellular signaling and neuronal function. They also act as second messengers in signal transduction, regulating processes such as glucocorticoid action and inflammation, potentially affecting mood and behavior through multiple mechanisms [50]. Conversely, dysfunctions in reverse cholesterol transport and low levels of HDL cholesterol are linked with both metabolic syndrome and mood disorders.

Lipidomic studies have demonstrated that differential lipid species significantly correlate with depression severity, as measured by the Hamilton Depression Scale [51–53].

We also identified coagulation as a gene ontology term relevant to depression. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1), known as a pro-thrombotic agent, was found to be upregulated in three of these biological processes. PAI-1 inhibits tissue plasminogen activator (tPA) and the conversion of plasminogen into plasmin, processes necessary for proteolysis of the brain-derived neurotrophic factor precursor (proBDNF) into mature BDNF. This mechanism suggests that PAI-1 may enhance apoptosis and spine retraction, potentially contributing to depressive symptoms. Elevated levels of PAI-1 have consistently been reported in MDD patients [54]. Moreover, alterations in platelet structure and function have been noted in MDD, promoting a pro-thrombotic state that appears to be partially reversed with antidepressant treatment [55–57]. These findings underscore the intricate interplay between lipid metabolism, coagulation pathways, and the pathophysiology of depression, highlighting potential avenues for therapeutic interventions.

PPIN and ANO8

The expanded PPIN encompassed differentially and non-differentially expressed proteins in the peripheral blood of individuals with depression, highlighting ANO8 as the central protein. ANO8 is predominantly expressed in brain tissues, particularly in regions such as the cerebellum, pons, amygdala, and prefrontal areas of the cerebral cortex, particularly the anterior cingulate cortex [58, 59]. Notably, anatomical changes in these brain regions have been associated with depression [60]. Supporting its potential relevance to depression, a genome-wide association study (GWAS) by Wong et al. [61] identified a single nucleotide polymorphism in the ANO8 gene linked to MDD.

ANO8 belongs to a family of transmembrane proteins known as calcium-activated chloride channels, although it does not function as one [62]. Instead, ANO8 serves as a tether membrane protein, facilitating interactions between the ER and plasma membrane at specialized regions known as membrane contact sites [63]. It is presumed that ANO8 plays a central role in calcium signaling, organizing calcium signaling proteins in phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2)-rich ER compartments. It recruits sarco/endoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase (SERCA2) pumps located in the ER, influencing both calcium uptake and depletion. Moreover, ANO8 may enhance inositol trisphosphate (IP3) production by

hydrolyzing PIP2 through phospholipase C (PLC), thereby enhancing cellular signaling and communication across compartments crucial for intracellular calcium homeostasis.

Interestingly, the gene ontology analysis described in the present article identified the ER lumen as a significant gene ontology term related to depression, aligning with ANO8's functional role. Lithium, a mood stabilizer commonly used as an augmentation strategy in MDD pharmacological treatment, is also involved in IP3 pathways, further implicating calcium signaling pathways in MDD pathophysiology [64]. However, it's important to note that the current understanding of ANO8's function in depression is primarily based on studies in mouse tissues and cultured cells, and to date, there are no other studies associating changes in ANO-8 expression in patients with MDD [65]. Human studies are necessary for elucidating ANO8's precise role, relevant polymorphisms, and its implications in depression-related mechanisms.

Limitations

The interpretation of the results of this study should consider some limitations. The original studies included in this review identified diverse sets of differentially expressed proteins using varied proteomic methodologies, some with small sample sizes. Our approach aimed to be inclusive, encompassing a wide range of studies to maximize protein coverage. Consequently, a significant majority (80%) of the proteins included in the PPIN were found to be differentially expressed in only one study. This raises the possibility that altering the inclusion or exclusion of datasets could influence centrality scores in the PPIN. In most studies, patient and control samples were predominantly female, which is consistent with the epidemiology of depression. However, although there are gender differences in the pathophysiology of MDD, this was not considered in the analyses described in the articles. Therefore, it was not possible to identify differences in protein expression between male and female subjects, since the studies did not provide data groups stratified by gender. Furthermore, four articles had to be excluded from our analysis due to insufficient data or the absence of supplementary materials upon request, underscoring the challenges posed by inconsistent data availability and reporting standards in proteomic studies.

Translating these findings into clinical practice is complex. It remains unclear how protein levels in peripheral blood correlate with their levels in brain tissue or how alterations in biological processes may contribute to the development of depressive symptoms. It is also not possible to determine, at this point, for all the proteins identified, whether such alterations in

protein expression and biological processes vary according to disease activity, represent predispositions to the diagnosis, or are associated with treatment response rates.

Conclusions

The heterogeneity of depression subtypes presents another significant challenge. Evidence suggests that different subtypes of depression may not share the same biomarkers, highlighting the necessity for studies that elucidate and differentiate the various mechanisms underlying this complex disease [\[66, 67\]](#).

Understanding the mechanisms underlying depression remains a significant challenge, as neither genetic markers nor serum or plasma biomarkers have demonstrated sufficient sensitivity or specificity to be integrated into clinical practice. In order to advance the understanding of MDD, this scenario demands new strategies, such as systems biology. To our knowledge, this study represents the first application of systems biology networks to proteomic studies in MDD patients. Using this approach, we found that molecular processes involving the ER lumen, lipid metabolism, and coagulation are prominent among the proteins identified by proteomic studies, expanding the notion that these pathways are involved in the pathophysiology of MDD. Furthermore, our study identified Anoctamin-8 as a potentially relevant protein in the pathophysiology of depression despite it not being routinely measured in laboratory tests. To better understand the relevance of ANO8 for MDD, additional research is needed. Future proteomics studies in MDD are also recommended, using larger patient cohorts and methodologies capable of detecting a broader array of proteins.

References

1. Duman RS, Aghajanian GK, Sanacora G, Krystal JH. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nat Med.* 2016;22:238–249.
2. Malhi GS, Mann JJ. Depression. *The Lancet.* 2018;392:2299–2312.
3. Saia-Cereda VM, Cassoli JS, Martins-de-Souza D, Nascimento JM. Psychiatric disorders biochemical pathways unraveled by human brain proteomics. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2017;267:3–17.
4. Comes AL, Papiol S, Mueller T, Geyer PE, Mann M, Schulze TG. Proteomics for blood biomarker exploration of severe mental illness: pitfalls of the past and potential for the future. *Transl Psychiatry.* 2018;8:160.

5. Giusti L, Ciregia F, Mazzoni MR, Lucacchini A. Proteomics insight into psychiatric disorders: an update on biological fluid biomarkers. *Expert Rev Proteomics*. 2016;13:941–950.
6. Gadad BS, Jha MK, Czysz A, Furman JL, Mayes TL, Emslie MP, et al. Peripheral biomarkers of major depression and antidepressant treatment response: Current knowledge and future outlooks. *J Affect Disord*. 2018;233:3–14.
7. The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res*. 2019;47:D330–D338.
8. Ghadie MA, Coulombe-Huntington J, Xia Y. Interactome evolution: insights from genome-wide analyses of protein-protein interactions. *Curr Opin Struct Biol*. 2018;50:42–48.
9. Ulgen E, Ozisik O, Sezerman OU. pathfindR: An R Package for Comprehensive Identification of Enriched Pathways in Omics Data Through Active Subnetworks. *Front Genet*. 2019;10:858.
10. Dessimoz C, Škunca N, editors. *The Gene Ontology Handbook*. vol. 1446. 1st ed. New York, NY: Springer New York; 2017.
11. Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, et al. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*. 2019;47:D607–D613.
12. The R Foundation. *The R Project for Statistical Computing*. 2020. <https://www.r-project.org/>. Accessed 30 July 2023.
13. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Res*. 2003;13:2498–2504.
14. Doncheva NT, Morris JH, Gorodkin J, Jensen LJ. Cytoscape StringApp: Network Analysis and Visualization of Proteomics Data. *J Proteome Res*. 2019;18:623–632.
15. Bot M, Chan MK, Jansen R, Lamers F, Vogelzangs N, Steiner J, et al. Serum proteomic profiling of major depressive disorder. *Transl Psychiatry*. 2015;5:e599–e599.
16. Diniz BS, Lin C-W, Sibille E, Tseng G, Lotrich F, Aizenstein HJ, et al. Circulating biosignatures of late-life depression (LLD): Towards a comprehensive, data-driven approach to understanding LLD pathophysiology. *J Psychiatr Res*. 2016;82:1–7.

17. Domenici E, Willé DR, Tozzi F, Prokopenko I, Miller S, McKeown A, et al. Plasma Protein Biomarkers for Depression and Schizophrenia by Multi Analyte Profiling of Case-Control Collections. *PLoS ONE*. 2010;5:e9166.
18. Lee MY, Kim EY, Kim SH, Cho K-C, Ha K, Kim KP, et al. Discovery of serum protein biomarkers in drug-free patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016;69:60–68.
19. Ren J, Zhao G, Sun X, Liu H, Jiang P, Chen J, et al. Identification of plasma biomarkers for distinguishing bipolar depression from major depressive disorder by iTRAQ-coupled LC–MS/MS and bioinformatics analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;86:17–24.
20. Stelzhammer V, Haenisch F, Chan MK, Cooper JD, Steiner J, Steeb H, et al. Proteomic changes in serum of first onset, antidepressant drug-naïve major depression patients. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014;17:1599–1608.
21. Wang Q, Su X, Jiang X, Dong X, Fan Y, Zhang J, et al. iTRAQ technology-based identification of human peripheral serum proteins associated with depression. *Neuroscience*. 2016;330:291–325.
22. Xu H-B, Zhang R-F, Luo D, Zhou Y, Wang Y, Fang L, et al. Comparative proteomic analysis of plasma from major depressive patients: identification of proteins associated with lipid metabolism and immunoregulation. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2012;15:1413–1425.
23. Musil R, Schwarz MJ, Riedel M, Dehning S, Cerovecki A, Spellmann I, et al. Elevated macrophage migration inhibitory factor and decreased transforming growth factor-beta levels in major depression — No influence of celecoxib treatment. *J Affect Disord*. 2011;134:217–225.
24. Marazziti D, Rutigliano G, Baroni S, Landi P, Dell’Osso L. Metabolic syndrome and major depression. *CNS Spectr*. 2014;19:293–304.
25. Xu T, Pu S, Ni Y, Gao M, Li X, Zeng X. Elevated plasma macrophage migration inhibitor factor as a risk factor for the development of post-stroke depression in ischemic stroke. *J Neuroimmunol*. 2018;320:58–63.
26. Cattaneo A, Gennarelli M, Uher R, Breen G, Farmer A, Aitchison KJ, et al. Candidate Genes Expression Profile Associated with Antidepressants Response in the GENDEP Study: Differentiating between Baseline ‘Predictors’ and Longitudinal ‘Targets’. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38:377–385.
27. Wang X, Sundquist K, Palmér K, Hedelius A, Memon AA, Sundquist J. Macrophage Migration Inhibitory Factor and microRNA-451a in Response to Mindfulness-

based Therapy or Treatment as Usual in Patients with Depression, Anxiety, or Stress and Adjustment Disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2018;21:513–521.

28. Conboy L, Varea E, Castro JE, Sakouhi-Ouertatani H, Calandra T, Lashuel HA, et al. Macrophage migration inhibitory factor is critically involved in basal and fluoxetine-stimulated adult hippocampal cell proliferation and in anxiety, depression, and memory-related behaviors. *Mol Psychiatry*. 2011;16:533–547.

29. von Känel R, Kudielka BM, Preckel D, Hanebuth D, Herrmann-Lingen C, Frey K, et al. Opposite effect of negative and positive affect on stress procoagulant reactivity. *Physiol Behav*. 2005;86:61–68.

30. Lopez-Vilchez I, Diaz-Ricart M, Navarro V, Torramade S, Zamorano-Leon J, Lopez-Farre A, et al. Endothelial damage in major depression patients is modulated by SSRI treatment, as demonstrated by circulating biomarkers and an in vitro cell model. *Transl Psychiatry*. 2016;6:e886–e886.

31. Kalkman HO. The Association Between Vascular Inflammation and Depressive Disorder. Causality, Biomarkers and Targeted Treatment. *Pharmaceuticals*. 2020;13:92.

32. Yang Y, Chen J, Liu C, Fang L, Liu Z, Guo J, et al. The Extrinsic Coagulation Pathway: a Biomarker for Suicidal Behavior in Major Depressive Disorder. *Sci Rep*. 2016;6:32882.

33. Pirro M, Bianconi V, Paciullo F, Mannarino MR, Bagaglia F, Sahebkar A. Lipoprotein(a) and inflammation: A dangerous duet leading to endothelial loss of integrity. *Pharmacol Res*. 2017;119:178–187.

34. Emanuele E, Carlin MV, D'Angelo A, Peros E, Barale F, Geroldi D, et al. Elevated plasma levels of lipoprotein(a) in psychiatric patients: a possible contribution to increased vascular risk. *Eur Psychiatry*. 2006;21:129–133.

35. Hamidifard S, Fakhari A, Mahboob S, Gargari BP. Plasma levels of lipoprotein (a) in patients with major depressive disorders. *Psychiatry Res*. 2009;169:253–256.

36. Chen X, Liu Z, Yang Y, Chen G, Wan Q, Qin G, et al. Depression Status, Lifestyle, and Metabolic Factors With Subsequent Risk for Major Cardiovascular Events: The China Cardiometabolic Disease and Cancer Cohort (4C) Study. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:865063.

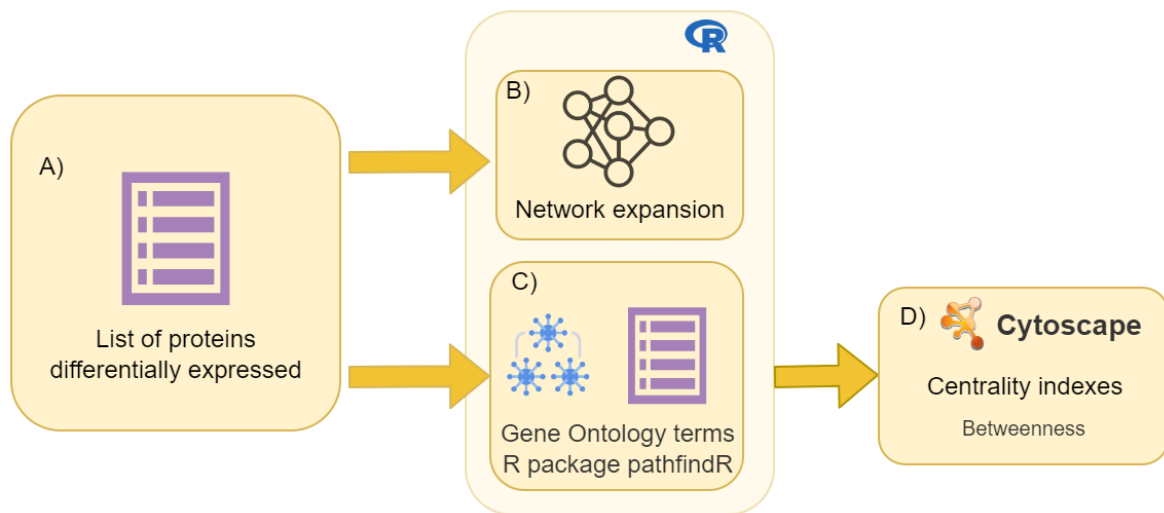
37. Krittanawong C, Maitra NS, Qadeer YK, Wang Z, Fogg S, Storch EA, et al. Association of Depression and Cardiovascular Disease. *Am J Med*. 2023;136:881–895.

38. Lippi G, Montagnana M, Favaloro E, Franchini M. Mental Depression and Cardiovascular Disease: A Multifaceted, Bidirectional Association. *Semin Thromb Hemost.* 2009;35:325–336.
39. Liu H, Luiten PGM, Eisel ULM, Dejongste MJL, Schoemaker RG. Depression after myocardial infarction: TNF- α -induced alterations of the blood–brain barrier and its putative therapeutic implications. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37:561–572.
40. Meijer A, Conradi HJ, Bos EH, Anselmino M, Carney RM, Denollet J, et al. Adjusted prognostic association of depression following myocardial infarction with mortality and cardiovascular events: individual patient data meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 2013;203:90–102.
41. Gold PW, Licinio J, Pavlatou MG. Pathological parainflammation and endoplasmic reticulum stress in depression: potential translational targets through the CNS insulin, klotho and PPAR- γ systems. *Mol Psychiatry.* 2013;18:154–165.
42. Gold PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Mol Psychiatry.* 2015;20:32–47.
43. Mao J, Hu Y, Ruan L, Ji Y, Lou Z. Role of endoplasmic reticulum stress in depression (Review). *Mol Med Rep.* 2019. 31 October 2019. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10789>.
44. Muneer A, Shamsher Khan RM. Endoplasmic Reticulum Stress: Implications for Neuropsychiatric Disorders. *Chonnam Med J.* 2019;55:8.
45. Shimoke K, Utsumi T, Kishi S, Nishimura M, Sasaya H, Kudo M, et al. Prevention of endoplasmic reticulum stress-induced cell death by brain-derived neurotrophic factor in cultured cerebral cortical neurons. *Brain Res.* 2004;1028:105–111.
46. Saito A, Cai L, Matsuhisa K, Ohtake Y, Kaneko M, Kanemoto S, et al. Neuronal activity-dependent local activation of dendritic unfolded protein response promotes expression of brain-derived neurotrophic factor in cell soma. *J Neurochem.* 2018;144:35–49.
47. Ciobanu LG, Sachdev PS, Trollor JN, Reppermund S, Thalamuthu A, Mather KA, et al. Co-expression network analysis of peripheral blood transcriptome identifies dysregulated protein processing in endoplasmic reticulum and immune response in recurrent MDD in older adults. *J Psychiatr Res.* 2018;107:19–27.
48. Omi T, Tanimukai H, Kanayama D, Sakagami Y, Tagami S, Okochi M, et al. Fluvoxamine alleviates ER stress via induction of Sigma-1 receptor. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1332–e1332.

49. Yang L, Zheng L, Wan Y, Chen Z, Li P, Wang Y. Metoprolol, N-Acetylcysteine, and Escitalopram Prevents Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression by Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress. *Front Psychiatry*. 2018;9:696.
50. Walther A, Cannistraci CV, Simons K, Durán C, Gerl MJ, Wehrli S, et al. Lipidomics in Major Depressive Disorder. *Front Psychiatry*. 2018;9:459.
51. de Melo LGP, Nunes SOV, Anderson G, Vargas HO, Barbosa DS, Galecki P, et al. Shared metabolic and immune-inflammatory, oxidative and nitrosative stress pathways in the metabolic syndrome and mood disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017;78:34–50.
52. Liu X, Li J, Zheng P, Zhao X, Zhou C, Hu C, et al. Plasma lipidomics reveals potential lipid markers of major depressive disorder. *Anal Bioanal Chem*. 2016;408:6497–6507.
53. Maes M, Delanghe J, Scharpé S, Meltzer HY, Cosyns P, Suy E, et al. Haptoglobin phenotypes and gene frequencies in unipolar major depression. *Am J Psychiatry*. 1994;151:112–116.
54. Elsayed M, Mohamed KA, Dardeer KT, Zaafar DK, Hassanin SO, Abdelnaby R, et al. Serum plasminogen activator inhibitor-1 levels in patients with major depressive disorder vs. healthy controls: a systematic review and meta-analysis. *Trends Psychiatry Psychother*. 2023. 2023. <https://doi.org/10.47626/2237-6089-2021-0338>.
55. De Luca C, Virtuoso A, Maggio N, Papa M. Neuro-Coagulopathy: Blood Coagulation Factors in Central Nervous System Diseases. *Int J Mol Sci*. 2017;18:2128.
56. Geiser F, Conrad R, Imbierowicz K, Meier C, Liedtke R, Klingmüller D, et al. Coagulation activation and fibrinolysis impairment are reduced in patients with anxiety and depression when medicated with serotonergic antidepressants. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2011;65:518–525.
57. Tagliarini C, Carbone MG, Pagni G, Marazziti D, Pomara N. Is there a relationship between morphological and functional platelet changes and depressive disorder? *CNS Spectr*. 2022;27:157–190.
58. The Human Protein Atlas. Ano8 Protein Expression Summary. *Hum Protein Atlas*. 2015. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000074855-ANO8>. Accessed 30 July 2023.
59. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347:1260419.
60. Oakes P, Loukas M, Oskouian RJ, Tubbs RS. The neuroanatomy of depression: A review. *Clin Anat*. 2017;30:44–49.

61. Wong M-L, Arcos-Burgos M, Liu S, Vélez JI, Yu C, Baune BT, et al. The PHF21B gene is associated with major depression and modulates the stress response. *Mol Psychiatry*. 2017;22:1015–1025.
62. Kunzelmann K, Schreiber R, Kmit A, Jantarajit W, Martins JR, Faria D, et al. Expression and function of epithelial anoctamins: Expression and function of epithelial anoctamins. *Exp Physiol*. 2012;97:184–192.
63. Jha A, Chung WY, Vachel L, Maleth J, Lake S, Zhang G, et al. Anoctamin 8 tethers endoplasmic reticulum and plasma membrane for assembly of Ca²⁺ signaling complexes at the ER/PM compartment. *EMBO J*. 2019;38.
64. Berridge MJ, Downes CP, Hanley MR. Neural and developmental actions of lithium: A unifying hypothesis. *Cell*. 1989;59:411–419.
65. Duran C, Hartzell HC. Physiological roles and diseases of tmem16/anoctamin proteins: are they all chloride channels? *Acta Pharmacol Sin*. 2011;32:685–692.
66. Beijers L, Wardenaar KJ, van Loo HM, Schoevers RA. Data-driven biological subtypes of depression: systematic review of biological approaches to depression subtyping. *Mol Psychiatry*. 2019;24:888–900.
67. Osimo EF, Baxter LJ, Lewis G, Jones PB, Khandaker GM. Prevalence of low-grade inflammation in depression: a systematic review and meta-analysis of CRP levels. *Psychol Med*. 2019;49:1958–1970.

Figure 1. Analysis workflow.



A) Proteins differentially expressed in major depression disorder were prospected by literature. B) Gene ontology terms were found using the R package pathfindR based on the proteins prospected. C) A protein-protein interaction network was performed in R based on the proteins prospected as input and based on the interactions in the STRING database. D) Centrality metrics (betweenness) were calculated in Cytoscape.

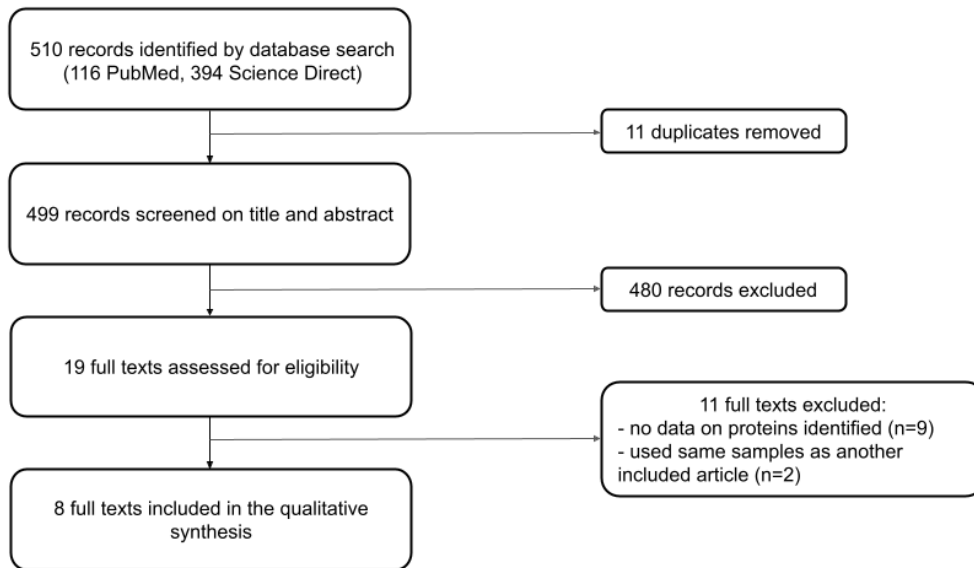
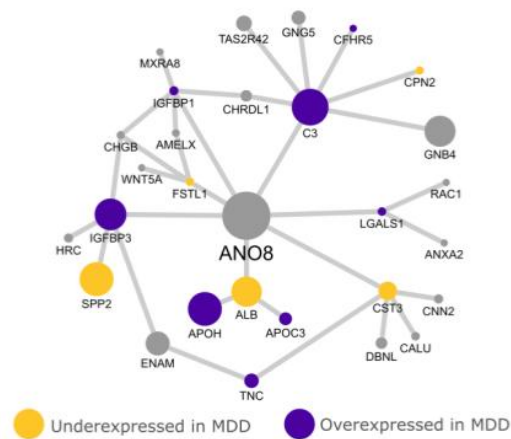
Figure 2. Study selection process.

Figure 3. Most central protein.



ANO8 was the most central protein. It can connect three differentially expressed proteins and central proteins (C3, IGFBP3 and ALB). All proteins connected with ANO8 are differentially expressed. Bigger nodes indicate higher betweenness centrality. Only a part of the whole network is shown to highlight the interactions of ANO8 with other proteins. ALB: Albumin. AMELX: Amelogenin, X isoform. ANO8: Anoctamin-8. ANXA2: Annexin A2. APOC3: Apolipoprotein C-III. APOH: Beta-2-glycoprotein 1. C3: Complement C3. CALU: Calumenin. CFHR5: Complement factor H-related protein 5. CHGB: Secretogranin-1. CHRDL1: Chordin-like protein 1. CNN2: Calponin-2. CPN2: Carboxypeptidase N subunit 2. CST3: Cystatin-C. DBNL: Drebrin-like protein. ENAM: Enamelin. FSTL1: Folistatin-1. GNB4: Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-4. GNG5: Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-5. HRC: Sarcoplasmic reticulum histidine-rich calcium-binding protein. IGFBP1: Insulin-like growth factor-binding protein 1. IGFBP3: Insulin-like growth factor-binding protein 3. LGALS1: Galectin-1. MXRA8: Matrix remodeling-associated protein 8. RAC1: Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1. SPP2: Secreted phosphoprotein 24. TAS2R42: Taste receptor type 2 member 42. TNC: Tenascin. WNT5A: Protein Wnt-5a.

Table 1. Demographic and sample characteristics of each study.

	Total of individuals	MDD Patients (M/F)	Age Mean (SD)	Healthy Controls (M/F)	Age Mean (SD)	Material	Method	Total of proteins identified	Differentially expressed proteins
Domenici et al., 2010	499	245 (78/167)	53,2 (14,3)	254 (81/173)	48,9 (14,2)	Plasma	Multiplex Immunoassay	79	32
Xu et al., 2012	42	21 (9/12)	29,52 (9,32)	21 (9/12)	30,76 (7,18)	Serum	LC-MS/MS	94	9
Stelzhammer et al., 2014 (Multiplex Immunoassay) ¹	65	23 (11/12)	40,83 (11,64)	42 (18/24)	40,57 (11,17)	Serum	Multiplex Immunoassay	112	30
Stelzhammer et al., 2014 (LC-MS/MS) ¹	36	15 (5/10)	39,53 (13,09)	21 (9/12)	41,14 (12,67)	Serum	LC-MS/MS	119	19
Bot et al., 2015	1107	687 (224/463)	41,2 (12,3)	420 (168/25)	39,0 (14,9)	Serum	Multiplex Immunoassay	171	28
Diniz et al., 2016	75	44 (6/38)	72,4 (6,0)	31 (17/14)	72,7 (6,2)	Plasma	Multiplex Immunoassay	195	53
Lee et al., 2016	20	10 (0/10)	38,6 (13,0)	10 (0/10)	37,5 (11,1)	Serum	LC-MS/MS	87	50
Wang et al., 2016	42	22 (9/13)	46,32 (6,01)	20 (9/11)	42,4 (7,55)	Serum	LC-MS/MS	472	154
Ren et al., 2017	60	30 (16/14)	29,57 (4,94)	30 (15/15)	28,43 (6,01)	Serum	LC-MS/MS	1012	52

¹Stelzhammer et al. (2014) employed two proteomics techniques.

Table 2. Proteins differentially expressed in major depression in at least three studies.

	MIF	VWF	LPA	APOA1	CRP	IL1RN	FABP1	IL16
Domenici, 2010		up	up	down	up		up	down
Xu, 2012								
Stelzhammer, 2014 (LC-MS/MS) ¹	up					up		up
Stelzhammer, 2014 (Multiplex immunoassay) ¹	up	up				up		up
Bot, 2015	up	up				up	up	
Diniz, 2016	up	up	up	down			down	
Lee, 2016			up		down			
Wang, 2016			down		up			
Ren, 2017				up				

¹Stelzhammer et al. (2014) employed two proteomics techniques.

LC-MS/MS: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry. MIF: Macrophage Inhibitor Factor. VWF: von Willebrand Factor. LPA: Lipoprotein (a). APOA1: Apolipoprotein A-I. CRP: C-Reactive Protein. IL1RN: Interleukin 1 receptor antagonist. FABP1: Fatty Acid Lipid Binding Protein 1. IL16: Interleukin 16.

Table 3: Fifteen most significant gene ontology terms.

ID	Term Description	Fold Enrichment	p-value	Upregulated	Downregulated
GO:0005788	endoplasmic reticulum lumen	10.5	5.502E-13	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein E, Beta-2-microglobulin, Complement C3, Complement C4-A, Coagulation factor VIII, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen gamma chain, Heparin cofactor 2, Tenascin, Insulin-like growth factor-binding protein 1, Insulin-like growth factor-binding protein 3, Insulin-like growth factor-binding protein 5, Insulin, Laminin subunit gamma-1, Urokinase plasminogen activator surface receptor, Osteopontin, Serotransferrin, Ghrelin, Collagen alpha-1(XVIII) chain	Alpha-2-HS-glycoprotein, Albumin, Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Amyloid-beta precursor protein, Antithrombin-III, Ceruloplasmin, Cystatin-C, Prothrombin, Coagulation factor VII, Coagulation factor IX, Coagulation factor X, Interleukin-12 subunit beta, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2, Kininogen-1, Protein disulfide-isomerase, Alpha-1-antitrypsin, Glucosidase 2 subunit beta, Vitamin K-dependent protein C, Thrombospondin-1, SPARC-like protein 1, Vitamin K-dependent protein Z, Mesothelin, Follistatin-related protein 1, Interleukin-23 subunit alpha
GO:0044267	cellular protein metabolic process	12.0	1.192E-10	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein E, Beta-2-microglobulin, Complement C3, Complement C4-A, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen gamma chain, Heparin cofactor 2, Tenascin, Insulin-like growth factor-binding protein 1, Insulin-like growth factor-binding protein 3, Insulin-like growth factor-binding protein 5, Insulin, Laminin subunit gamma-1, Lysozyme C, Serum amyloid A-1 protein, Osteopontin, Serotransferrin, Transthyretin, Histone H4	Alpha-2-HS-glycoprotein, Albumin, Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Amyloid-beta precursor protein, Antithrombin-III, Ceruloplasmin, Cystatin-C, Prothrombin, Gelsolin, Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2, Kininogen-1, 72 kDa type IV collagenase, Protein disulfide-isomerase, Alpha-1-antitrypsin, Glucosidase 2 subunit beta, Prolactin, Vitamin K-dependent protein C, SPARC-like protein 1, Mesothelin, Follistatin-related protein 1
GO:0004252	serine-type endopeptidase activity	12.5	1.589E-06	Complement factor B, Serine protease hepsin, Apolipoprotein(a), Stromelysin-1	Prothrombin, Coagulation factor VII, Coagulation factor IX, Coagulation factor XII, 72 kDa type IV collagenase, Urokinase-type plasminogen activator, Vitamin K-dependent protein C, Trypsin-1

GO:0034375	high-density lipoprotein particle remodeling	36.6	3.904E-05	Apolipoprotein C-I, Apolipoprotein C-III, Apolipoprotein E	Albumin, Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Cholesteryl ester transfer protein, Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase, Phospholipid transfer protein, Endothelial lipase
GO:0002576	platelet degranulation	17.2	1.569E-04	Alpha-1B-glycoprotein, Alpha-2-macroglobulin, Alpha-1-antichymotrypsin, Beta-2-glycoprotein 1, Pro-epidermal growth factor, Coagulation factor VIII, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen beta chain, Fibrinogen gamma chain, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4, Plasminogen activator inhibitor 1, Superoxide dismutase, Serotransferrin, Tetranectin, von Willebrand factor	Alpha-2-HS-glycoprotein, Albumin, Apolipoprotein A-I, Amyloid-beta precursor protein, Plasma protease C1 inhibitor, Histidine-rich glycoprotein, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3, Kininogen-1, Galectin-3-binding protein, Alpha-1-acid glycoprotein 1, Alpha-1-acid glycoprotein 2, Platelet factor 4, Alpha-1-antitrypsin, Kallistatin, Platelet basic protein, Vitamin K-dependent protein S, SPARC, Thrombospondin-1, Multimerin-1, Fermitin family homolog 3
GO:0004867	serine-type endopeptidase inhibitor activity	22.9	1.883E-04	Alpha-2-macroglobulin, Alpha-1-antichymotrypsin, Plasminogen activator inhibitor 1, Plasma serine protease inhibitor	Protein AMBP, Amyloid-beta precursor protein, Plasma protease C1 inhibitor, Alpha-1-antitrypsin, Antileukoproteinase
GO:0031093	platelet alpha granule lumen	23.0	2.838E-04	Alpha-1B-glycoprotein, Alpha-2-macroglobulin, Alpha-1-antichymotrypsin, Pro-epidermal growth factor, Coagulation factor VIII, Fibrinogen alpha chain, Fibrinogen beta chain, Fibrinogen gamma chain, Plasminogen activator inhibitor 1, von Willebrand factor	Alpha-2-HS-glycoprotein, Albumin, Amyloid-beta precursor protein, Plasma protease C1 inhibitor, Histidine-rich glycoprotein, Kininogen-1, Alpha-1-acid glycoprotein 1, Alpha-1-acid glycoprotein 2, Platelet factor 4, Alpha-1-antitrypsin, Platelet basic protein, Vitamin K-dependent protein S, SPARC, Thrombospondin-1, Multimerin-1, Fermitin family homolog 3
GO:0043691	reverse cholesterol transport	31.9	2.181E-03	Apolipoprotein E	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase, Endothelial lipase
GO:0005543	phospholipid binding	10.7	4.360E-03	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein C-I, Apolipoprotein E, Beta-2-glycoprotein 1	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Coagulation factor X, Rho GTPase-activating protein 35, Serum paraoxonase/arylesterase 1

GO:0120020	intermembrane cholesterol transfer activity	20.9	4.794E-03	Apolipoprotein B-100	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Cholesteryl ester transfer protein
GO:0034361	very low density lipoprotein particle	33.4	4.794E-03	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein C-I, Apolipoprotein C-III, Apolipoprotein E, Beta-2-glycoprotein 1	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV
GO:0042632	cholesterol homeostasis	10.1	8.632E-03	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein C-III, Apolipoprotein E, Angiopoietin-related protein 3	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Cholesteryl ester transfer protein, Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase, Endothelial lipase
GO:0009749	response to glucose	8.8	1.490E-02	-	Apolipoprotein A-II, Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D, Thrombospondin-1
GO:0005769	early endosome	4.3	1.635E-02	Apolipoprotein B-100, Apolipoprotein C-III, Apolipoprotein E, Serotransferrin, Vascular cell adhesion protein 1, ATP-binding cassette sub-family B member 9	Apolipoprotein A-I, Apolipoprotein A-II, Apolipoprotein A-IV, Amyloid-beta precursor protein, Endothelial lipase
GO:0018149	peptide cross-linking	16.7	1.737E-02	-	Keratin, type II cytoskeletal 1, Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal, Keratin, type I cytoskeletal 10, Cornifin-A, Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E, Thrombospondin-1
GO:0004866	endopeptidase inhibitor activity	22.9	2.307E-02	Heparin cofactor 2, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4, Apolipoprotein(a), Pregnancy zone protein	Cystatin-C, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3, Vitamin K-dependent protein S, Antileukoproteinase

Supplementary information

In 'Results' section:

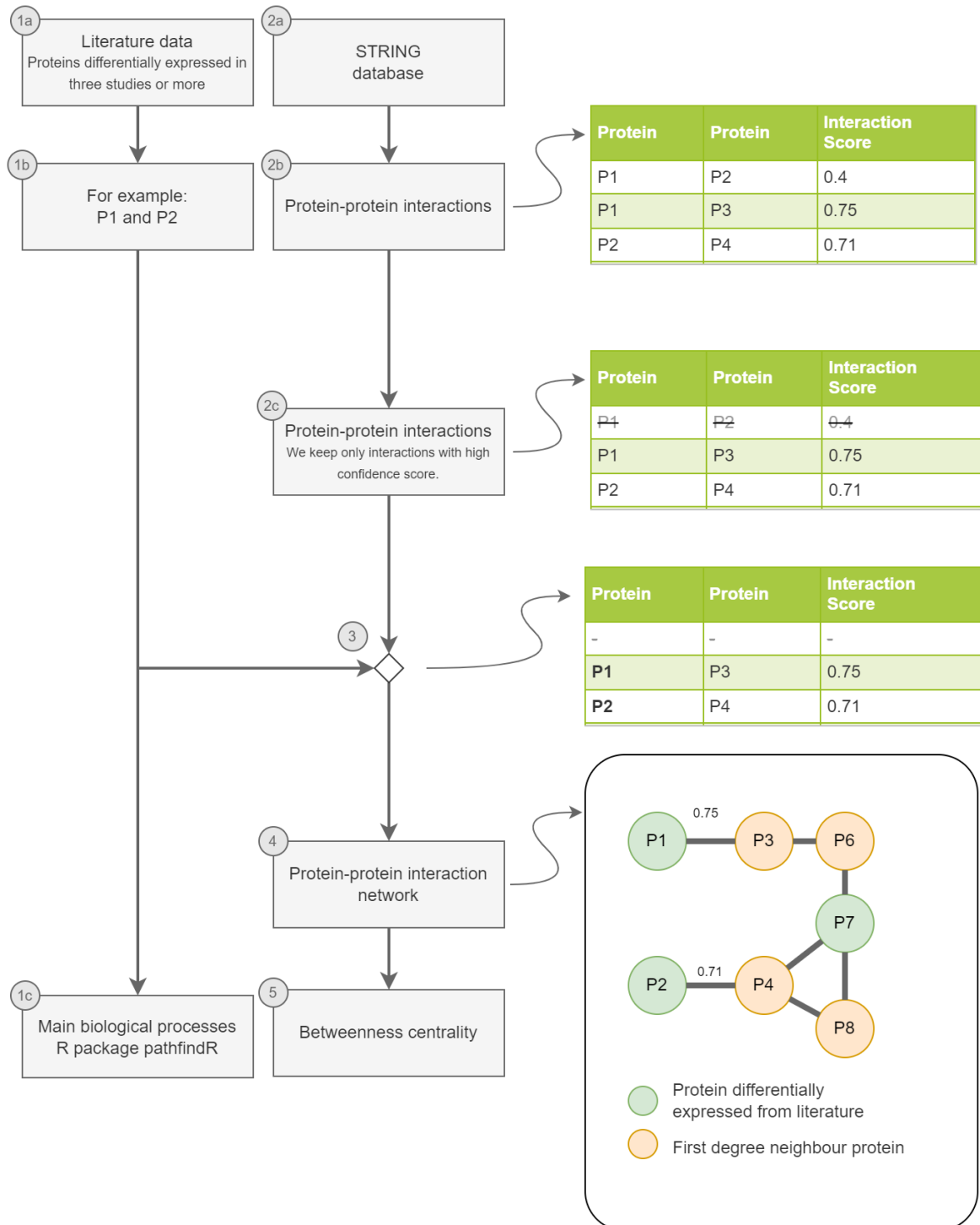
Thirteen proteins encoded by the following genes were not mapped in String dataset:

IgM, IGHV12, IGHV3-30, IGKV1D-33, IGKV1D-12, IGKV3-20, IGLV2-11, IGLV2-14, IGLV6-57, IGHE, IGKV4-1, IGKV1-33, and IGHG3.

No interactions were found for 35 proteins encoded by the following genes:

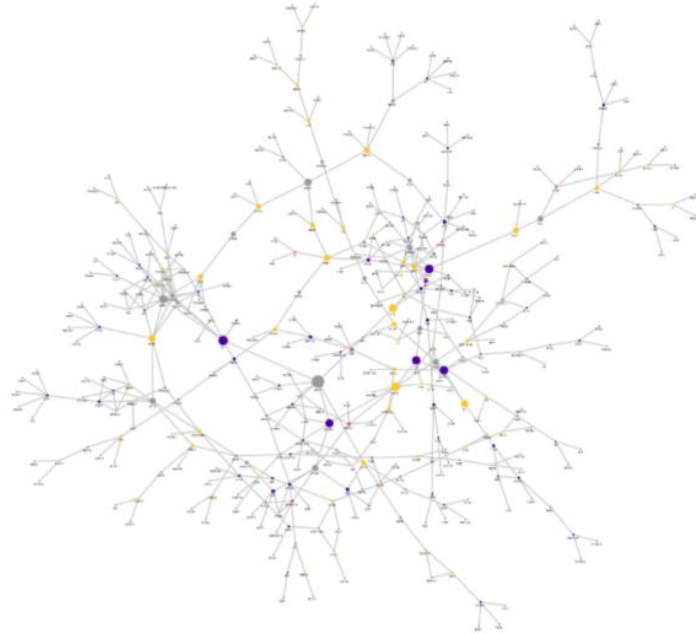
ABCB5, ABCB9, AFM, ALDOB, APOD, B2M, BPIFB1, C1QB, CCDC180, CCL23, CFAP46, CLEC11A, CRELD1, DCD, DDR2, DNAH14, ENKUR, FAM53B, FGA, FRMPD1, HHIPL1, ITIH1, KCP, KNG1, KRTAP13-1, MYOM3, NEXMIF, POF1B, PRG4, PXDNL, PZP, SBSN, SLC26A6, TGM3, and TIE1.

Supplementary figure 1. Detailed analysis workflow.



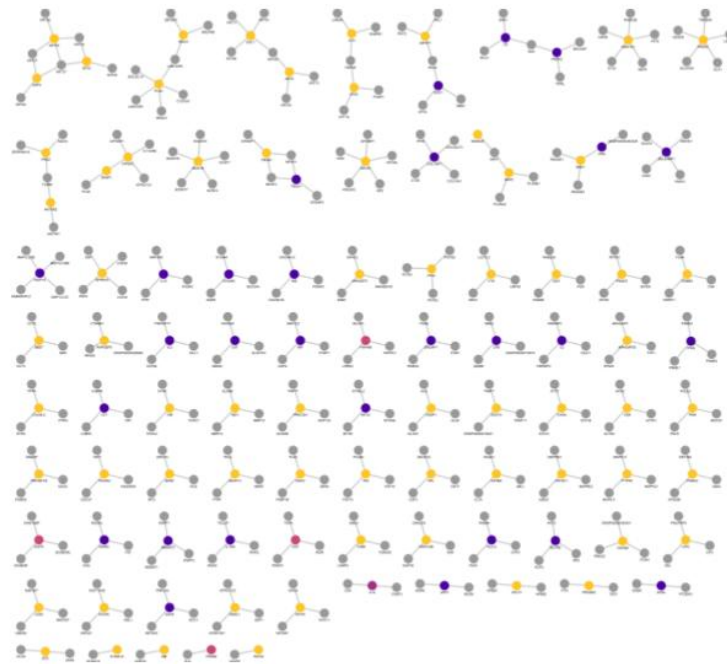
a) We prospected differentially expressed proteins. 1b) For example, P1 and P2 represent two proteins differentially expressed. 1c) The differentially expressed proteins were as input in pathfindR. 3) P1 and P2 were mapped in a dataset containing protein-protein interactions. This dataset was created in three steps (2a – 2c): 2a) A dataset with protein-protein interactions was downloaded from STRING. 2b) The dataset was imported to R. 2c) After, interactions with confidence score less than 0.7 were excluded. 4) The protein-protein interaction was created based on interactions with high confidence. Neighboring proteins of up to one degree were selected (orange proteins in illustration in step 4). 5) Betweenness centrality was calculated in Cytoscape.

Supplementary figure 2. Main protein-protein interaction network.



Purple circles represent overexpressed proteins in the blood of major depressive disorder patients, yellow circles represent underexpressed proteins, and pink nodes indicate there is no consensus about the expression of the protein based on the included studies.

Supplementary figure 3. Small protein-protein interaction networks.



Purple circles represent overexpressed proteins in the blood of major depressive disorder patients, yellow circles represent underexpressed proteins, and pink nodes indicate there is no consensus about the expression of the protein based on the included studies.

Supplementary table 1. Data extraction sheet.

Protein_ID_UniProt	Input_R	Gene_Symbol	Identifier_String	Protein_Name	Author	Change_expression	Value	Measure	P-value	FC_Input	Input	Sample	Comparison	Technique	
P01011		AACT		Alpha-1-Antitrypsin	Box et al., 2015	up	0.018		0.007		0.007	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P01009		AAT		Alpha-1-Antitrypsin	Box et al., 2015	up	0.017		0.004		0.004	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P03980		ANG		Angiotensin	Box et al., 2015	up	0.019		0.003		0.003	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q15123		ANG2		Angiotensin-2	Box et al., 2015	down	-0.025		0.016		0.016	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P06727		APQ4		Apelin protein A-IV	Box et al., 2015	up	0.019		0.036		0.036	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P05990		APOD		Apolipoprotein D	Box et al., 2015	up	0.019		0.003		0.003	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P05701		CEA		Carcinoembryonic Antigen	Box et al., 2015	up	0.022		0.048		0.048	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P07339		CTSD		Cathepsin D	Box et al., 2015	up	0.016		0.02		0.02	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q6P2H9		CD40		CD 40 Antigen	Box et al., 2015	down	-0.012		0.033		0.033	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q0A591		CFHR1		Complement Factor H - Related Protein 1	Box et al., 2015	up	0.021		0.037		0.037	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P08311		ENRAGE		EN-RAGE	Box et al., 2015	up	0.042		0.026		0.026	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P10900		FABP1		Fatty Acid-Binding Protein	Box et al., 2015	up	0.021		0.049		0.049	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P02785		AHSG		Fetuin A	Box et al., 2015	up	0.013		0.042		0.042	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P01225 P01215		FSH		Follicle Stimulating Hormone	Box et al., 2015	down	-0.068		0.001		0.001	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P09341		GRCa		Growth-Regulated Alpha Protein	Box et al., 2015	down	-0.029		0.012		0.012	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P09891		HPH		Hes1	Box et al., 2015	up	0.012		0.024		0.024	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P24593		KF6P5		Insulin-like growth factor binding protein 5	Box et al., 2015	down	-0.011		0.014		0.014	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P18510		IL1RN		IL-1 receptor antagonist	Box et al., 2015	up	0.017		0.028		0.028	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P29480		IL12B		Interleukin 12 p40	Box et al., 2015	up	0.014		0.027		0.027	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P01225 P01215		LH		Lutealizing Hormone	Box et al., 2015	down	-0.042		0.003		0.003	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P14174		MF		Macrophage Migration Inhibitory Factor	Box et al., 2015	up	0.044		0.006		0.006	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P08234		MMP3		Matrix Metalloproteinase-3	Box et al., 2015	up	0.025		0.015		0.015	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P09238		MMP10		Matrix Metalloproteinase-10	Box et al., 2015	up	0.023		0.026		0.026	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P01236		PPY		Pancreatic Polypeptide	Box et al., 2015	up	0.008		0.001		0.001	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q10651		PRSS8		Procathepsin	Box et al., 2015	up	0.028		0.002		0.002	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P21800		ERBB3		Receptor tyrosine protein kinase erbB-3	Box et al., 2015	down	-0.033		0.017		0.017	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q0A048		UPAR		Urokinase-type plasminogen activator receptor	Box et al., 2015	up	0.028		0.015		0.015	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
P04275		VWF		von Willebrand Factor	Box et al., 2015	up	0.022		0.049		0.049	Seam	Current MDO (n=87) vs. HC (n=20)	Multiple Mass Spec	
Q02547		AFN		Adiponectin	Domellof et al., 2010	down	-4.53E-02	Difference	0.00793675		0.007937	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
Q02548		APOA1		Apolipoprotein A-I	Domellof et al., 2010	down	-4.17E-02	Difference	3.71302E-05		3.714E-05	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
Q02656		APOC3		Apolipoprotein C-III	Domellof et al., 2010	up	6.34E-02	Difference	0.00109403		0.001084	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P61789		ESM		Beta-2-Microglobulin	Domellof et al., 2010	up	3.96E-02	Difference	7.8527E-06		7.853E-06	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P23390		BDNF		Brain-Derived Neurotrophic Factor	Domellof et al., 2010	down	-9.98E-02	Difference	0.00133433		0.001334	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P01024		CS		Complement C3	Domellof et al., 2010	up	2.95E-02	Difference	0.00213909		0.002131	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
Q02741		CRP		C-Reactive Protein	Domellof et al., 2010	up	2.15E-01	Difference	6.9032E-05		6.91E-05	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P01133		EGF		Epidermal Growth Factor	Domellof et al., 2010	down	-9.53E-02	Difference	0.02213616		0.022136	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P42830		ENAH2		Epithelial-Derived Neutrophil-Activating Protein 2	Domellof et al., 2010	down	-6.11E-02	Difference	0.00879392		0.008793	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P51871		CCL11		Eotaxin	Domellof et al., 2010	down	-1.95E-02	Difference	0.00125633		0.001256	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
K0F146 P12104 P15900 Q13540 Q1469 P04113 P02571 P02575 P02579 P02581 P02575 P02579 P02571 P02575 P02579	No	FABP1		Fatty Acid-Binding Protein	Domellof et al., 2010	up	1.98E-01	Difference	0.000204382		0.000204	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P02579		FG		Fibrinogen	Domellof et al., 2010	up	2.45E-02	Difference	0.003996182		0.0039962	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P02571 P02575 P02579		FGA		Fibrinogen	Domellof et al., 2010	up	2.45E-02	Difference	0.003996182		0.0039962	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P02571 P02575 P02579		FGB		Fibrinogen	Domellof et al., 2010	up	2.45E-02	Difference	0.003996182		0.0039962	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P02571 P02575 P02579		FGG		Fibrinogen	Domellof et al., 2010	up	2.45E-02	Difference	0.003996182		0.0039962	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P01241		GH		Growth Hormone	Domellof et al., 2010	down	-2.92E-01	Difference	7.99982E-06		7.997E-06	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P04141		GM-CSF		Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor	Domellof et al., 2010	up	5.42E-01	Difference	0.00399153		0.003992	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P01871		IGH		Immunoglobulin H	Domellof et al., 2010	down	-6.50E-02	Difference	0.000595497		0.000595	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
Q22301		IL10		Interleukin-10	Domellof et al., 2010	up	2.96E-02	Difference	0.02330232		0.023303	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
Q14005		IL16		Interleukin-16	Domellof et al., 2010	down	-2.12E-02	Difference	0.04589927		0.045899	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P41159		Legtin		Legtin	Domellof et al., 2010	up	4.04E-01	Difference	0.00049471		0.000489	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P08519		LPA		Lysophosphatidic acid	Domellof et al., 2010	up	1.21E-01	Difference	0.00127926		0.001279	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P13236		CCL4		Macrophage Inflammatory Protein 1 beta	Domellof et al., 2010	up	4.31E-02	Difference	0.003322193		0.003322	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P08233		MMP2		Matrix Metalloproteinase-2	Domellof et al., 2010	down	-1.01E-01	Difference	4.1939E-06		4.194E-06	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P08121		PAI1		Plasminogen Activator Inhibitor 1	Domellof et al., 2010	up	5.22E-01	Difference	0.000320611		0.000320	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P15801		RANTES		T-Cell-Specific Protein RANTES	Domellof et al., 2010	down	-7.32E-02	Difference	0.000351291		0.000351	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P00118		SAA		Serum Amyloid A Protein	Domellof et al., 2010	up	2.42E-01	Difference	0.000938286		0.000938	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P17174		GOT1		Serum Glucocorticoid-Induced Transmembrane	Domellof et al., 2010	up	3.45E-02	Difference	0.000482385		0.000483	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P13726		TF		Tissue Factor	Domellof et al., 2010	up	7.41E-02	Difference	0.000000000		0.000000	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P01215 P01222		TSBH		Thyroid Stimulating Hormone	Domellof et al., 2010	down	-7.17E-02	Difference	0.003394091		0.003394	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P19320		VCAM1		Vascular Cell Adhesion Molecule-1	Domellof et al., 2010	up	2.46E-02	Difference	0.004316376		0.004316	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P04275		VWF		von Willebrand Factor	Domellof et al., 2010	up	6.94E-02	Difference	4.1049E-05		4.105E-05	Plasma	MDO (n=24) vs. HC (n=25)	Multiple Mass Spec	
P12821		ACE		Angiotensin-Converting Enzyme	Stelzhammer et al., 2014	down	-1.13	Fold change	0.02968228		-1.13	0.029693	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P08511		ENRAGE		Extracellular matrix-induced RAGE-binding protein	Stelzhammer et al., 2014	up	2.45	Fold change	0.000		2.45	0.000	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P02792 P02794	No	FRTN		Ferritin	Stelzhammer et al., 2014	up	3.7	Fold change	0.00167927		3.7	0.0016793	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P02792		FTL		Ferritin	Stelzhammer et al., 2014	up	3.7	Fold change	0.00167927		3.7	0.0016793	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P02794		FTH		Ferritin	Stelzhammer et al., 2014	up	3.7	Fold change	0.00167927		3.7	0.0016793	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P18510		IL1RN		Interleukin-1 receptor antagonist	Stelzhammer et al., 2014	up	1.44	Fold change	0.001		1.44	0.001	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
Q14005		IL16		Interleukin-16	Stelzhammer et al., 2014	up	1.4	Fold change	0.000		1.4	0.000	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P14174		MF		Macrophage Migration Inhibitory Factor	Stelzhammer et al., 2014	up	1.65	Fold change	0.00020773		1.65	2.773E-05	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P24821		THC		Tesacase-C	Stelzhammer et al., 2014	up	1.35	Fold change	0.009		1.35	0.009	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P01011		AACT		Alpha-1-Antitrypsin	Stelzhammer et al., 2014	up	2.2	Fold change	0.004		2.2	0.004	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P02789		APDH		Apolipoprotein H	Stelzhammer et al., 2014	up	1.12	Fold change	0.03344166		1.12	0.0334419	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
Q43927		SLC		S Lysozyme Clec4eolactant	Stelzhammer et al., 2014	up	1.16	Fold change	0.02144512		1.16	0.0214451	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
P10645		CHGA		Chromogranin A	Stelzhammer et al., 2014	down	-1.39	Fold change	0.03701297		-1.39	0.037013	Seam	MDO (n=23) vs. HC (n=42)	Multiple Mass Spec
		CoRe		CoRe	Stelzhammer et al., 2014	up	1.67	Fold change	0.00716258		1.67				

P3690	CFHR2	Complement factor H related protein 2	Wang et al. 2016	10	1.4	Fold change	0.040691	0.4	0.040691	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q26149	CFHR5	Complement factor H related protein 5	Wang et al. 2016	10	1.4	Fold change	1.72606	0.4	1.72606	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P02671	FGA	Fibrinogen alpha chain	Wang et al. 2016	10	2.6	Fold change	0.0010228	1.6	0.0010228	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P02675	FBG	Fibrinogen beta chain	Wang et al. 2016	10	2.4	Fold change	0.0142633	1.4	0.0142633	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P02679	FGG	Fibrinogen gamma chain	Wang et al. 2016	10	2.6	Fold change	0.0006978	1.6	0.0006978	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
ZS5V50	FRMPD1	FZRL and FZC domain-containing protein 1	Wang et al. 2016	10	1.5	Fold change	0.0040696	0.5	0.0040696	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q12841	FSTL1	Follistatin-related protein 1	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0051917	-0.2	0.0051917	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P06396	GN	Gelsolin	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0017939	-0.2	0.0017939	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q9UBU3	GHR23L	Aglycosylated glycoprotein	Wang et al. 2016	10	1.4	Fold change	0.0066315	0.4	0.0066315	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P14314	PRKCH	Quiescine 2 cell surface beta	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	1.61505	-0.3	1.61505	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P16402	HIST1H4D	Histone H4 type 1A	Wang et al. 2016	10	1.3	Fold change	0.0270296	0.3	0.0270296	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q26406	HIST1H2BA	Histone H2 type 1A	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	3.05602	-0.2	3.05602	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P16695	HIST3H3	Histone H3.3	Wang et al. 2016	10	3.1	Fold change	0.0195933	2.1	0.0195933	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P85271	HBB	Hemoglobin subunit beta	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.1043001	0.2	0.1043001	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P05546	SERPIND1	Heparan cofactor 2	Wang et al. 2016	10	1.6	Fold change	3.05605	0.6	3.05605	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q04736	HGFAC	Hepatocyte growth factor activator	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0077912	-0.2	0.0077912	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P00739	HRP	Hepatocyte-related protein	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0044901	-0.2	0.0044901	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
J23003	IGHV12	Immunoglobulin heavy variable 1-2	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0003435	-0.2	0.0003435	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01786	IGHV30	Immunoglobulin heavy variable 3-30	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	0.0001434	-0.3	0.0001434	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P05533	KFEP1	Insulin-like growth factor binding protein 1	Wang et al. 2016	10	1.4	Fold change	0.0084166	0.4	0.0084166	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P17036	KFEP3	Insulin-like growth factor binding protein 3	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.0307229	0.2	0.0307229	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P05135	SERPINC1	Plasminogen activator inhibitor 1	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0022229	-0.4	0.0022229	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01076	IGHA1	Immunoglobulin heavy constant alpha 1	Wang et al. 2016	10	1.3	Fold change	0.0016101	0.3	0.0016101	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01591	IGJ	Immunoglobulin J chain	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.0051382	0.2	0.0051382	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01634	IGK	Immunoglobulin kappa constant	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.0040483	0.2	0.0040483	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P55103	INHCB	Inhibin beta C chain	Wang et al. 2016	10	1.4	Fold change	0.0023293	0.4	0.0023293	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P05134	SERPINA5	Plasminogen activator inhibitor	Wang et al. 2016	10	1.3	Fold change	0.0030999	0.3	0.0030999	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P19226	ITIH1	Inter-alpha-1 type III inhibitor heavy chain H1	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	0.0011269	-0.3	0.0011269	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P19223	ITIH2	Inter-alpha-1 type III inhibitor heavy chain H2	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	2.05605	-0.3	2.05605	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q06033	ITIH3	Inter-alpha-1 type III inhibitor heavy chain H3	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0011396	-0.2	0.0011396	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q14624	ITIH4	Inter-alpha-1 type III inhibitor heavy chain H4	Wang et al. 2016	10	1.3	Fold change	0.0012359	-0.3	0.0012359	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P13665	KRT10	Keratin, type I cytoskeletal 10	Wang et al. 2016	10	0.4	Fold change	0.0022961	-0.6	0.0022961	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P38327	KRT9	Keratin, type I cytoskeletal 9	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0009709	-0.4	0.0009709	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q13790	KPFB	Keratinocyte F	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0051493	-0.4	0.0051493	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P04254	KRT1	Keratin, type I cytoskeletal 1	Wang et al. 2016	10	0.4	Fold change	0.0017001	-0.6	0.0017001	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P29822	SERPINA4	Keratan	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0011344	-0.2	0.0011344	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P03992	KLKB1	Klamin	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0008076	-0.2	0.0008076	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01042	KNG1	Klaminogen-1	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0038743	-0.2	0.0038743	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P14616	KIM	Pyruvate kinase PGM	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0148917	-0.2	0.0148917	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01593	IGLV10-33	Immunoglobulin kappa variable 10-33	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0303902	-0.2	0.0303902	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01611	IGLV10-12	Immunoglobulin kappa variable 10-12	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0011922	-0.2	0.0011922	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01619	IGKV3-20	Immunoglobulin kappa variable 3-20	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.0070963	-0.2	0.0070963	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P11607	LAMC1	Laminin subunit gamma 1	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.009737	0.2	0.009737	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P04190	LCAT	Phospholipid:cholesterol acyltransferase	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	0.0010415	-0.3	0.0010415	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P09382	LGALS1	Galectin-1	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.0066842	0.2	0.0066842	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q06330	LGALS3BP	Galectin-3 binding protein	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	0.003841	-0.2	0.003841	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
Q29193	LIPG	Lipoprotein lipase	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	0.0114616	-0.3	0.0114616	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P51884	LUM	Lumican	Wang et al. 2016	10	0.5	Fold change	0.0011126	-0.5	0.0011126	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01706	IGLV2-11	Immunoglobulin lambda variable 2-11	Wang et al. 2016	10	1.5	Fold change	0.0172309	0.5	0.0172309	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01704	IGLV2-14	Immunoglobulin lambda variable 2-14	Wang et al. 2016	10	0.6	Fold change	1.45606	-0.2	1.45606	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01721	IGLV5-7	Immunoglobulin lambda variable 5-7	Wang et al. 2016	10	0.7	Fold change	0.0006792	-0.3	0.0006792	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P01626	LYZ	Lysozyme C	Wang et al. 2016	10	1.2	Fold change	0.0498381	0.2	0.0498381	Seam	MD0 (#=23) vs. HC (#=20)	ITRA2+LC
P33908	MMP1A1	Mannose-6-phosphatase 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819,										

P00734	F2	Fibrinogen	Wang et al., 2016	0.7	Fold change	1.91E-05	-0.3	1.91E-05	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P07477	FRS31	Tyrosinase	Wang et al., 2016	0.7	Fold change	0.0001676	-0.3	0.0001676	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P07496	THS1	Thrombospondin 1	Wang et al., 2016	0.5	Fold change	0.0002704	-0.5	0.0002704	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q96107	FERMT3	Fermitin family domain 3	Wang et al., 2016	0.6	Fold change	0.0007916	-0.2	0.0007916	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P06670	VIM	Vimentin	Wang et al., 2016	0.7	Fold change	0.004321	-0.3	0.004321	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P04004	VTN	Vitronectin	Wang et al., 2016	0.6	Fold change	0.0074083	-0.2	0.0074083	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q02281	WDFY4	WD repeat and FYVE domain containing protein 4	Wang et al., 2016	1.3	Fold change	0.0185361	0.3	0.0185361	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q25250	NEXMF	Nucleosome extension and migration factor	Wang et al., 2016	0.4	Fold change	0.0077496	-0.4	0.0077496	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26107	MUC16	Mucin-16	Wang et al., 2016	0.4	Fold change	0.0212095	-0.4	0.0212095	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26258	HO	Histone H3	Wang et al., 2016	1.2042047	Fold change	0.0002307	0.2	0.0002307	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26129	CCDC180	Coiled-coil domain-containing protein 180	Wang et al., 2016	0.7	Fold change	0.0069235	-0.3	0.0069235	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26174	ARHGAP35	Rho GTPase-activating protein 35	Wang et al., 2016	0.4	Fold change	0.0077496	-0.4	0.0077496	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P82195	PSMCS	26S proteasome regulatory subunit 6	Wang et al., 2016	0.621483377	Fold change	0.0198039	-0.3	0.0198039	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26146	HSRA12B	Heat shock 70 kDa protein 12B	Wang et al., 2016	0.621483377	Fold change	0.0198039	-0.3	0.0198039	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q26796	NANNT3	Nucleosome/nucleolar acid nonucleosidease	Wang et al., 2016	1.63331829	Fold change	0.0005404	0.2	0.0005404	Seeman	MD (n=22) vs. HC (n=20)	ITRAQ + LC-MS/MS
P01011	AAC1	Alpha-1-Antichymotrypsin	Dirz et al., 2016	0.55	Disease effect	5.13E-07	-0.5	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P06727	APOA4	Apolipoprotein A-IV	Dirz et al., 2016	-3.44	Disease effect	5.13E-07	-3.4	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P04114	APOB	Apolipoprotein B	Dirz et al., 2016	0.97	Disease effect	5.13E-07	0.9	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01789	EDM	Beta-2-Microglobulin	Dirz et al., 2016	0.53	Disease effect	5.13E-07	-0.5	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01308	INS	Insulin	Dirz et al., 2016	0.88	Disease effect	5.13E-07	0.8	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P15090	FABP1	Fatty Acid Binding Protein, liver	Dirz et al., 2016	-5.33	Disease effect	5.13E-07	-5.3	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26830	FGL1	Fibrinogen-like protein 1	Dirz et al., 2016	-1.83	Disease effect	5.13E-07	-1.8	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P23142	FBLN1	Fibulin-1	Dirz et al., 2016	0.7	Disease effect	5.13E-07	0.7	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q14625	ITAC	C-X-C motif chemokine 11	Dirz et al., 2016	-1.21	Disease effect	5.13E-07	-1.2	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P40189	IGSF1	Immunoglobulin-like 5 receptor chain beta	Dirz et al., 2016	0.44	Disease effect	5.13E-07	0.4	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q12121	MGLN	Megalin	Dirz et al., 2016	-1.82	Disease effect	5.13E-07	-1.8	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P30185	HGAL	Heparan Sulfate Glycosyltransferase-Associated Lipocalin	Dirz et al., 2016	1.26	Disease effect	5.13E-07	1.2	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
		Progestrone	Dirz et al., 2016	1.32	Disease effect	5.13E-07	1.3	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01236	PRL	Prolactin	Dirz et al., 2016	-1.48	Disease effect	5.13E-07	-1.4	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26109	RETN	Retinoid	Dirz et al., 2016	-1.49	Disease effect	5.13E-07	-1.4	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P07911	THP	Tamm-Horsfall Urinary Glycoprotein	Dirz et al., 2016	0.93	Disease effect	5.13E-07	0.9	5.13E-07	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P39600	COL15A1	Collagen	Dirz et al., 2016	0.52	Disease effect	3.08E-06	0.5	3.08E-06	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P17331	IGLAL3	Galactin-3	Dirz et al., 2016	-0.42	Disease effect	3.08E-06	-0.4	3.08E-06	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P24393	IGFBP5	Insulin-like Growth Factor Binding Protein 5	Dirz et al., 2016	0.43	Disease effect	5.13E-06	0.4	5.13E-06	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26177	IGFBP3	Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3	Dirz et al., 2016	-0.01	Disease effect	5.13E-06	-0.0	5.13E-06	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
		Co factor	Dirz et al., 2016	0.7	Disease effect	7.69E-06	0.7	7.69E-06	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P21983	SCF	Stem Cell Factor	Dirz et al., 2016	-0.94	Disease effect	1.49E-05	-0.9	1.49E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P07339	CTSD	Cathepsin D	Dirz et al., 2016	0.43	Disease effect	2.31E-05	0.4	2.31E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P02780	AAMB	Alpha-1-Microglobulin	Dirz et al., 2016	-0.31	Disease effect	3.49E-05	-0.3	3.49E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P00533	EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	Dirz et al., 2016	0.44	Disease effect	7.59E-05	0.4	7.59E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P09104	EMO2	Neurotrophin-2 Receptor	Dirz et al., 2016	-0.94	Disease effect	7.44E-05	-0.9	7.44E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P093989	ANG	Angiotensin	Dirz et al., 2016	0.36	Disease effect	8.00E-05	0.3	8.00E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P04205	HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2	Dirz et al., 2016	-0.37	Disease effect	8.02E-05	-0.3	8.02E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q15467	CD116	Chemokine CC4	Dirz et al., 2016	0.55	Disease effect	9.85E-05	0.5	9.85E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P14174	MF	Macrophage Migration Inhibitory Factor	Dirz et al., 2016	1.38	Disease effect	9.95E-05	1.3	9.95E-05	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01674	IGHE	Immunoglobulin E	Dirz et al., 2016	-1.8	Disease effect	1.28E-04	-1.8	1.28E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P29442	CD40	CD40 Antigen	Dirz et al., 2016	-0.36	Disease effect	1.54E-04	-0.3	1.54E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P02649	APOE	Apolipoprotein E	Dirz et al., 2016	1.31	Disease effect	1.77E-04	1.3	1.77E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26882	APOA2	Apolipoprotein A-II	Dirz et al., 2016	-0.38	Disease effect	2.54E-04	-0.3	2.54E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P29440	IL12B	Interleukin-12 subunit beta	Dirz et al., 2016	-0.42	Disease effect	3.85E-04	-0.4	3.85E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26542	IKM1	Honey Bee Melittin-1	Dirz et al., 2016	-0.9	Disease effect	3.87E-04	-0.9	3.87E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P85773	CD133	Myeloid Progenitor Cell Marker 1	Dirz et al., 2016	0.41	Disease effect	4.54E-04	0.4	4.54E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q20763	TEK	Tyrosine Kinase with Intracellular and EGFR Homology Domain	Dirz et al., 2016	-0.36	Disease effect	4.59E-04	-0.3	4.59E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q26931	CD119	Macrophage Intelectin-3 Receptor 3 beta	Dirz et al., 2016	-0.3	Disease effect	7.13E-04	-0.3	7.13E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P06732 P12277	CKMB	Creatine Kinase MB	Dirz et al., 2016	-0.66	Disease effect	7.37E-04	-0.6	7.37E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P06732	CKM	Creatine Kinase M-type	Dirz et al., 2016	-0.66	Disease effect	7.37E-04	-0.6	7.37E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P12277	CKB	Creatine Kinase B-type	Dirz et al., 2016	-0.66	Disease effect	7.37E-04	-0.6	7.37E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P08519	LPA	Apolipoprotein (a)	Dirz et al., 2016	1.43	Disease effect	7.99E-04	1.4	7.99E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01034	CPTD	Cystatin C	Dirz et al., 2016	-0.2	Disease effect	8.29E-04	-0.2	8.29E-04	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P48061	CVCL12	Stromal Cell-Derived Factor 1	Dirz et al., 2016	-0.29	Disease effect	1.02E-03	-0.2	1.02E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P00749	PLAU	Urokinase-type Plasminogen Activator	Dirz et al., 2016	-0.32	Disease effect	1.39E-03	-0.3	1.39E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P08482	CLEC3B	Tetraspanin	Dirz et al., 2016	0.26	Disease effect	1.53E-03	0.2	1.53E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P01296	PPY	Pancreatic Polypeptide	Dirz et al., 2016	0.92	Disease effect	1.79E-03	0.9	1.79E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P04275	VWF	von Willebrand Factor	Dirz et al., 2016	0.42	Disease effect	2.01E-03	0.4	2.01E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P02796	TTR	Transthyretin	Dirz et al., 2016	0.25	Disease effect	2.45E-03	0.2	2.45E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
P20333	TNFRSF1B	Tumor Necrosis Factor Receptor 2	Dirz et al., 2016	-0.26	Disease effect	2.41E-03	-0.2	2.41E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q18551	FRS35	Frostin	Dirz et al., 2016	-0.39	Disease effect	2.52E-03	-0.3	2.52E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	MultipleX Immunosorbent Assay
Q20287	APOA1	Apolipoprotein A-I	Lee et al., 2016	0.7	log2FC	2.57E-03	0.7	2.57E-03	Plasma	MD (n=44) vs. HC (n=31)	ITRAQ + LC-MS/MS
Q20288	ANK1	Ankyrin class 1	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20289	EPH1B	Ephrins class 1 family B member 1	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20290	CAF2	Casein kinase II	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20291	CRELD1	Protein disulfide isomerase CRELD1	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20292	CRP	C-reactive protein	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20293	DOX2	Drosophila doublesex-containing receptor 2	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20294	DOX1	Drosophila doublesex-containing receptor 1	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20295	DNAAF4	DNAse I-like domain containing protein 4	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20296	ENKUR	Enkainin	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20297	FE	Coagulation factor VIII	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20298	FAM13B	Protein FAM13B	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20299	OC	Osteocalcin	Lee et al., 2016	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	0.5	Seeman	MD (n=10) vs. HC (n=10)	ITRAQ + LC-MS/MS	
Q20300	HCAFL1	Histone H2A.L1	Lee et al., 2016	0.5	Seeman						

7 CONCLUSÃO

Compreender os mecanismos que levam à depressão ainda é um desafio. Ainda que haja interesse e investimentos significativos no ramo, até o momento, nenhum biomarcador demonstrou sensibilidade ou especificidade suficiente para se tornar ferramenta na prática clínica psiquiátrica do TDM. Este cenário expõe a necessidade de novas estratégias metodológicas, como a biologia de sistemas, para que siga em expansão o conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos da depressão. Apesar das descobertas recentes, as aplicações de redes de interação nas pesquisas em psiquiatria ainda estão numa fase inicial. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo combinando técnicas de biologia de sistemas à revisão de literatura de estudos de proteômica em pacientes com TDM, criando redes híbridas. Ao utilizar esta abordagem, descobrimos que as funções biológicas envolvendo o lúmen do retículo endoplasmático, o metabolismo lipídico e a coagulação foram predominantes nas proteínas diferencialmente expressas identificadas pelos estudos na revisão, sugerindo que essas vias podem estar envolvidas na fisiopatologia do TDM. Também identificamos uma proteína que pode participar de forma relevante nos mecanismos da depressão, mas que não é rotineiramente aferida pelos métodos laboratoriais disponíveis. A integração das abordagens de bioinformática e de redes de interação pode contribuir para a descoberta de mecanismos fisiopatogênicos anteriormente desconhecidos, em especial aqueles que não poderiam ser identificados por metodologias tradicionais. Para compreender melhor a relevância da ANO8 e sua relação com o TDM, são necessárias mais pesquisas. A validação experimental dos achados já previamente identificados em estudos de proteômica também é recomendada, incluindo amostras maiores de pacientes, e utilizando metodologias mais reprodutíveis e confiáveis.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva, Switzerland; 2017.
2. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Lond Engl.* 2017;390(10100):1211–59.
3. Bonadiman CSC, Malta DC, de Azeredo Passos VM, Naghavi M, Melo APS. Depressive disorders in Brazil: results from the Global Burden of Disease Study 2017. *Popul Health Metr.* 2020;18(Suppl 1):6.
4. Malhi GS, Mann JJ. Depression. *The Lancet.* novembro de 2018;392(10161):2299–312.
5. Bonadiman CSC, Naghavi M, Melo APS. The burden of suicide in Brazil: findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2022;55(suppl 1):e0299.
6. COVID-19 Mental Disorders Collaborators. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *Lancet Lond Engl.* 2021;398(10312):1700–12.
7. Gaynes BN, Lux L, Gartlehner G, Asher G, Forman-Hoffman V, Green J, et al. Defining treatment-resistant depression. *Depress Anxiety.* fevereiro de 2020;37(2):134–45.
8. Sartorius N, Baghai TC, Baldwin DS, Barrett B, Brand U, Fleischhacker W, et al. Antidepressant medications and other treatments of depressive disorders: a CINP Task Force report based on a review of evidence. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2007;10 Suppl 1:S1-207.
9. Kamran M, Bibi F, Ur. Rehman Asim, Morris DW. Major Depressive Disorder: Existing Hypotheses about Pathophysiological Mechanisms and New Genetic Findings. *Genes.* 2022;13(4):646.
10. Fleck MP, Horwath E. Pharmacologic management of difficult-to-treat depression in clinical practice. *Psychiatr Serv Wash DC.* 2005;56(8):1005–11.
11. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders [Internet]. DSM-5-TR. American Psychiatric Association Publishing; 2022 [citado 29 de março de 2024]. Disponível em: <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425787>
12. Herron JW, Nerurkar L, Cavanagh J. Neuroimmune Biomarkers in Mental Illness. Em: Pratt J, Hall J, organizadores. *Biomarkers in Psychiatry* [Internet]. Cham, Switzerland: Springer International Publishing; 2018. p. 45–78. (Current Topics in Behavioral Neurosciences). Disponível em: https://doi.org/10.1007/7854_2018_45
13. Lawlor C. From melancholia to prozac: a history of depression. Oxford: Oxford University Press; 2012. 265 p.
14. Al-Rashid MN. Mental Symptoms in the Akkadian Diagnostic Handbook: A study of patterns in the description of depression, anxiety, and madness. [Cambridge, UK]: University of Oxford; 2014.
15. Reynolds EH, Wilson JVK. Depression and anxiety in Babylon. *J R Soc Med.* dezembro de 2013;106(12):478–81.
16. Lynch CJ, Gunning FM, Liston C. Causes and Consequences of Diagnostic Heterogeneity in Depression: Paths to Discovering Novel Biological Depression Subtypes. *Biol Psychiatry.* julho de 2020;88(1):83–94.
17. Østergaard SD, Jensen SOW, Bech P. The heterogeneity of the depressive syndrome: when numbers get serious. *Acta Psychiatr Scand.* dezembro de 2011;124(6):495–6.

18. Suseelan S, Pinna G. Heterogeneity in major depressive disorder: The need for biomarker-based personalized treatments. Em: *Advances in Clinical Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2023 [citado 17 de fevereiro de 2024]. p. 1–67. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065242322000695>
19. Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, et al. Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry*. 2010;167(7):748–51.
20. Gururajan A, Clarke G, Dinan TG, Cryan JF. Molecular biomarkers of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. maio de 2016;64:101–33.
21. Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. Functional Biomarkers of Depression: Diagnosis, Treatment, and Pathophysiology. *Neuropsychopharmacology*. novembro de 2011;36(12):2375–94.
22. Lakhan SE, Vieira K, Hamlat E. Biomarkers in psychiatry: drawbacks and potential for misuse. *Int Arch Med*. 2010;3:1.
23. Suravajhala P, Kogelman LJA, Kadarmideen HN. Multi-omic data integration and analysis using systems genomics approaches: methods and applications in animal production, health and welfare. *Genet Sel Evol*. 2016;48(1):38.
24. Dalvie S, Chatzinakos C, Al Zoubi O, Georgiadis F, Lancashire L, Daskalakis NP. From genetics to systems biology of stress-related mental disorders. *Neurobiol Stress*. 2021;15:100393.
25. Zuo Y, Wei D, Zhu C, Naveed O, Hong W, Yang X. Unveiling the Pathogenesis of Psychiatric Disorders Using Network Models. *Genes*. 2021;12(7):1101.
26. Ideker T, Thorsson V, Ranish JA, Christmas R, Buhler J, Eng JK, et al. Integrated Genomic and Proteomic Analyses of a Systematically Perturbed Metabolic Network. *Science*. 2001;292(5518):929–34.
27. Woods AG, Sokolowska I, Yakubu R, Butkiewicz M, LaFleur M, Talbot C, et al. Blue Native PAGE and Mass Spectrometry as an Approach for the Investigation of Stable and Transient Protein-Protein Interactions. Em: *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy* [Internet]. American Chemical Society; 2011 [citado 30 de março de 2024]. p. 341–67. (ACS Symposium Series; vol. 1083). Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1083.ch012>
28. Sokolowska I, Ngounou Wetie AG, Wormwood K, Thome J, Darie CC, Woods AG. The potential of biomarkers in psychiatry: focus on proteomics. *J Neural Transm*. agosto de 2015;122(S1):9–18.
29. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, et al. Progress with Proteome Projects: Why all Proteins Expressed by a Genome Should be Identified and How To Do It. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 1996;13(1):19–50.
30. Gadad BS, Jha MK, Czysz A, Furman JL, Mayes TL, Emslie MP, et al. Peripheral biomarkers of major depression and antidepressant treatment response: Current knowledge and future outlooks. *J Affect Disord*. junho de 2018;233:3–14.
31. Comes AL, Papiol S, Mueller T, Geyer PE, Mann M, Schulze TG. Proteomics for blood biomarker exploration of severe mental illness: pitfalls of the past and potential for the future. *Transl Psychiatry*. dezembro de 2018;8(1):160.
32. Ideker T, Galitski T, Hood L. A new approach to decoding life: systems biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2001;2:343–72.
33. Tyson JJ, Chen K, Novak B. Network dynamics and cell physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2(12):908–16.
34. Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R. Systems biology primer: the basic methods and approaches. *Essays Biochem*. 2018;62(4):487–500.
35. Segal DS, Kuczenski R, Mandell AJ. Theoretical implications of drug-induced adaptive

- regulation for a biogenic amine hypothesis of affective disorder. *Biol Psychiatry*. outubro de 1974;9(2):147–59.
36. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*. outubro de 2008;455(7215):894–902.
 37. Girotti M, Adler SM, Bulin SE, Fucich EA, Paredes D, Morilak DA. Prefrontal cortex executive processes affected by stress in health and disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. julho de 2018;85:161–79.
 38. Brigitta B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin Neurosci*. março de 2002;4(1):7–20.
 39. El Mansari M, Guiard BP, Chernoloz O, Ghanbari R, Katz N, Blier P. Relevance of norepinephrine-dopamine interactions in the treatment of major depressive disorder. *CNS Neurosci Ther*. junho de 2010;16(3):e1-17.
 40. Miller HL, Delgado PL, Salomon RM, Berman R, Krystal JH, Heninger GR, et al. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch Gen Psychiatry*. fevereiro de 1996;53(2):117–28.
 41. Lacasse JR, Leo J. Serotonin and depression: a disconnect between the advertisements and the scientific literature. *PLoS Med*. dezembro de 2005;2(12):e392.
 42. Liu B, Liu J, Wang M, Zhang Y, Li L. From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:305.
 43. Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci*. fevereiro de 2006;7(2):137–51.
 44. Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, et al. Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR*D Report. *Am J Psychiatry*. novembro de 2006;163(11):1905–17.
 45. Willner P, Scheel-Krüger J, Belzung C. The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neurosci Biobehav Rev*. dezembro de 2013;37(10 Pt 1):2331–71.
 46. Hamon M, Blier P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. agosto de 2013;45:54–63.
 47. Moretti A, Gorini A, Villa RF. Affective disorders, antidepressant drugs and brain metabolism. *Mol Psychiatry*. 1º de setembro de 2003;8(9):773–85.
 48. Villas Boas GR, Boerngen De Lacerda R, Paes MM, Gubert P, Almeida WLDC, Rescia VC, et al. Molecular aspects of depression: A review from neurobiology to treatment. *Eur J Pharmacol*. maio de 2019;851:99–121.
 49. Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. Causal Relationship Between Stressful Life Events and the Onset of Major Depression. *Am J Psychiatry*. junho de 1999;156(6):837–41.
 50. Pechtel P, Pizzagalli DA. Effects of early life stress on cognitive and affective function: an integrated review of human literature. *Psychopharmacology (Berl)*. março de 2011;214(1):55–70.
 51. Ferrari F, Villa RF. The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. *Mol Neurobiol*. 2016;54(7):4847–65.
 52. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron*. 28 de março de 2002;34(1):13–25.
 53. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. fevereiro de 2016;42(1):15–31, vii.
 54. Villa RF, Ferrari F, Gorini A. Energy metabolism of rat cerebral cortex, hypothalamus and hypophysis during ageing. *Neuroscience*. dezembro de 2012;227:55–66.
 55. Suri D, Vaidya VA. Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: Relevance to hippocampal structural and functional plasticity. *Neuroscience*. junho de

- 2013;239:196–213.
56. Dean J, Keshavan M. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian J Psychiatry*. junho de 2017;27:101–11.
 57. Nobis A, Zalewski D, Waszkiewicz N. Peripheral Markers of Depression. *J Clin Med*. 24 de novembro de 2020;9(12):3793.
 58. Nemeroff CB. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry*. setembro de 1996;1(4):336–42.
 59. Bouwknecht JA. Behavioral studies on anxiety and depression in a drug discovery environment: Keys to a successful future. *Eur J Pharmacol*. abril de 2015;753:158–76.
 60. Nemeroff CB, Vale WW. The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. *J Clin Psychiatry*. 2005;66 Suppl 7:5–13.
 61. Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci*. setembro de 2008;31(9):464–8.
 62. Brouwer JP, Appelhof BC, Hoogendijk WJG, Huyser J, Endert E, Zuketto C, et al. Thyroid and adrenal axis in major depression: a controlled study in outpatients. *Eur J Endocrinol*. fevereiro de 2005;152(2):185–91.
 63. Carroll BJ, Cassidy F, Naftolowitz D, Tatham NE, Wilson WH, Iranmanesh A, et al. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand*. fevereiro de 2007;115(s433):90–103.
 64. Anacker C, Zunszain PA, Cattaneo A, Carvalho LA, Garabedian MJ, Thuret S, et al. Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol Psychiatry*. julho de 2011;16(7):738–50.
 65. Mickey BJ, Ginsburg Y, Sitzmann AF, Grayhack C, Sen S, Kirschbaum C, et al. Cortisol trajectory, melancholia, and response to electroconvulsive therapy. *J Psychiatr Res*. agosto de 2018;103:46–53.
 66. Owashi T, Otsubo T, Oshima A, Nakagome K, Higuchi T, Kamijima K. Longitudinal neuroendocrine changes assessed by dexamethasone/CRH and growth hormone releasing hormone tests in psychotic depression. *Psychoneuroendocrinology*. fevereiro de 2008;33(2):152–61.
 67. Carroll BJ. The Dexamethasone Suppression Test for Melancholia. *Br J Psychiatry*. março de 1982;140(3):292–304.
 68. Pariante CM. Why are depressed patients inflamed? A reflection on 20 years of research on depression, glucocorticoid resistance and inflammation. *Eur Neuropsychopharmacol*. junho de 2017;27(6):554–9.
 69. Watkins LR, Nguyen KT, Lee JE, Maier SF. Dynamic Regulation of Proinflammatory Cytokines. Em: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R, organizadores. *Cytokines, Stress, and Depression* [Internet]. New York, NY: Springer US; 1999 [citado 6 de abril de 2024]. p. 153–78. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 461). Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-0-585-37970-8_10
 70. Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle WJ, Miller GE, Frank E, Rabin BS, et al. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proc Natl Acad Sci*. 17 de abril de 2012;109(16):5995–9.
 71. Leonard BE. The HPA and immune axes in stress: the involvement of the serotonergic system. *Eur Psychiatry*. outubro de 2005;20(S3):S302–6.
 72. Jeon SW, Kim YK. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: Cause or consequence in that illness? *World J Psychiatry*. 2016;6(3):283.
 73. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry*. maio de 2000;157(5):683–94.
 74. Bollen J, Trick L, Llewellyn D, Dickens C. The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of

- experimental studies. *J Psychosom Res.* março de 2017;94:47–55.
75. Smith RS. The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses.* agosto de 1991;35(4):298–306.
 76. Wichers MC, Kenis G, Koek GH, Robaey G, Nicolson NA, Maes M. Interferon- α -induced depressive symptoms are related to changes in the cytokine network but not to cortisol. *J Psychosom Res.* fevereiro de 2007;62(2):207–14.
 77. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biol Psychiatry.* maio de 2009;65(9):732–41.
 78. Prather AA, Rabinovitz M, Pollock BG, Lotrich FE. Cytokine-induced depression during IFN- α treatment: the role of IL-6 and sleep quality. *Brain Behav Immun.* novembro de 2009;23(8):1109–16.
 79. Raison CL, Borisov AS, Woolwine BJ, Massung B, Vogt G, Miller AH. Interferon- α effects on diurnal hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity: relationship with proinflammatory cytokines and behavior. *Mol Psychiatry.* maio de 2010;15(5):535–47.
 80. Chida Y, Sudo N, Sonoda J, Hiramoto T, Kubo C. Early-Life Psychological Stress Exacerbates Adult Mouse Asthma via the Hypothalamus–Pituitary–Adrenal Axis. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 de fevereiro de 2007;175(4):316–22.
 81. Yang L, Zhao Y, Wang Y, Liu L, Zhang X, Li B, et al. The Effects of Psychological Stress on Depression. *Curr Neuropharmacol.* 2015;13(4):494–504.
 82. Carpenter LL, Gawuga CE, Tyrka AR, Lee JK, Anderson GM, Price LH. Association between Plasma IL-6 Response to Acute Stress and Early-Life Adversity in Healthy Adults. *Neuropsychopharmacology.* dezembro de 2010;35(13):2617–23.
 83. Danese A, Moffitt TE, Pariante CM, Ambler A, Poulton R, Caspi A. Elevated Inflammation Levels in Depressed Adults With a History of Childhood Maltreatment. *Arch Gen Psychiatry.* 1º de abril de 2008;65(4):409.
 84. Bauer ME, Teixeira AL. Inflammation in psychiatric disorders: what comes first? *Ann N Y Acad Sci.* fevereiro de 2019;1437(1):57–67.
 85. Lo Fermo S, Barone R, Patti F, Laisa P, Cavallaro TL, Nicoletti A, et al. Outcome of psychiatric symptoms presenting at onset of multiple sclerosis: a retrospective study. *Mult Scler J.* junho de 2010;16(6):742–8.
 86. Dickens C, McGowan L, Clark-Carter D, Creed F. Depression in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review of the Literature With Meta-Analysis. *Psychosom Med.* janeiro de 2002;64(1):52–60.
 87. Graff LA, Walker JR, Bernstein CN. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: A review of comorbidity and management. *Inflamm Bowel Dis.* julho de 2009;15(7):1105–18.
 88. Pasco JA, Nicholson GC, Williams LJ, Jacka FN, Henry MJ, Kotowicz MA, et al. Association of high-sensitivity C-reactive protein with *de novo* major depression. *Br J Psychiatry.* novembro de 2010;197(5):372–7.
 89. Koo JW, Duman RS. IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci.* 15 de janeiro de 2008;105(2):751–6.
 90. Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis. *Science.* 5 de dezembro de 2003;302(5651):1760–5.
 91. Zunszain PA, Hepgul N, Pariante CM. Inflammation and Depression. Em: Cowen PJ, Sharp T, Lau JYF, organizadores. *Behavioral Neurobiology of Depression and Its Treatment* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [citado 6 de abril de 2024]. p. 135–51. (Current Topics in Behavioral Neurosciences; vol. 14). Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/7854_2012_211
 92. Carvalho AF, Solmi M, Sanches M, Machado MO, Stubbs B, Ajnakina O, et al.

- Evidence-based umbrella review of 162 peripheral biomarkers for major mental disorders. *Transl Psychiatry*. dezembro de 2020;10(1):152.
93. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. outubro de 2015;49:206–15.
 94. Köhler CA, Freitas TH, Maes M, De Andrade NQ, Liu CS, Fernandes BS, et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82 studies. *Acta Psychiatr Scand*. maio de 2017;135(5):373–87.
 95. Köhler CA, Freitas TH, Stubbs B, Maes M, Solmi M, Veronese N, et al. Peripheral Alterations in Cytokine and Chemokine Levels After Antidepressant Drug Treatment for Major Depressive Disorder: Systematic Review and Meta-Analysis. *Mol Neurobiol* [Internet]. 13 de junho de 2017 [citado 6 de abril de 2024]; Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-017-0632-1>
 96. Ng A, Tam WW, Zhang MW, Ho CS, Husain SF, McIntyre RS, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 13 de agosto de 2018;8(1):12050.
 97. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. *Psychosom Med*. fevereiro de 2009;71(2):171–86.
 98. Caraci F, Copani A, Nicoletti F, Drago F. Depression and Alzheimer's disease: Neurobiological links and common pharmacological targets. *Eur J Pharmacol*. janeiro de 2010;626(1):64–71.
 99. Maes M, Nowak G, Caso JR, Leza JC, Song C, Kubera M, et al. Toward Omics-Based, Systems Biomedicine, and Path and Drug Discovery Methodologies for Depression-Inflammation Research. *Mol Neurobiol*. julho de 2016;53(5):2927–35.
 100. Syed SA, Beurel E, Loewenstein DA, Lowell JA, Craighead WE, Dunlop BW, et al. Defective Inflammatory Pathways in Never-Treated Depressed Patients Are Associated with Poor Treatment Response. *Neuron*. 5 de setembro de 2018;99(5):914-924.e3.
 101. Duman RS. A Molecular and Cellular Theory of Depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1º de julho de 1997;54(7):597.
 102. Kuipers SD, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel*. setembro de 2006;9(5):580–6.
 103. Brunoni AR, Baeken C, Machado-Vieira R, Gattaz WF, Vanderhasselt MA. BDNF blood levels after electroconvulsive therapy in patients with mood disorders: A systematic review and meta-analysis. *World J Biol Psychiatry*. julho de 2014;15(5):411–8.
 104. Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, Bus BAA, Penninx BWJH, Elzinga BM. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Mol Psychiatry*. julho de 2014;19(7):791–800.
 105. Duman RS, Li N. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 5 de setembro de 2012;367(1601):2475–84.
 106. Karege F, Vaudan G, Schwald M, Perroud N, La Harpe R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Mol Brain Res*. maio de 2005;136(1–2):29–37.
 107. Pandey GN, Ren X, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Dwivedi Y. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *Int J Neuropsychopharmacol*. dezembro de 2008;11(08):1047.

108. Gass P, Riva MA. CREB, neurogenesis and depression. *BioEssays*. outubro de 2007;29(10):957–61.
109. Kraus C, Castrén E, Kasper S, Lanzenberger R. Serotonin and neuroplasticity – Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. *Neurosci Biobehav Rev*. junho de 2017;77:317–26.
110. Castrén E. Neuronal Network Plasticity and Recovery From Depression. *JAMA Psychiatry*. 1º de setembro de 2013;70(9):983.
111. Kempermann G. The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? *Trends Neurosci*. abril de 2008;31(4):163–9.
112. Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*. fevereiro de 2000;47(4):351–4.
113. Sanacora G, Frye MA, McDonald W, Mathew SJ, Turner MS, Schatzberg AF, et al. A Consensus Statement on the Use of Ketamine in the Treatment of Mood Disorders. *JAMA Psychiatry*. 1º de abril de 2017;74(4):399.
114. Lener MS, Niciu MJ, Ballard ED, Park M, Park LT, Nugent AC, et al. Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Systems in the Pathophysiology of Major Depression and Antidepressant Response to Ketamine. *Biol Psychiatry*. maio de 2017;81(10):886–97.
115. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*. janeiro de 2012;13(1):22–37.
116. Wang YT, Wang XL, Feng ST, Chen NH, Wang ZZ, Zhang Y. Novel rapid-acting glutamatergic modulators: Targeting the synaptic plasticity in depression. *Pharmacol Res*. setembro de 2021;171:105761.
117. Frye MA, Tsai GE, Huggins T, Coyle JT, Post RM. Low Cerebrospinal Fluid Glutamate and Glycine in Refractory Affective Disorder. *Biol Psychiatry*. janeiro de 2007;61(2):162–6.
118. Hashimoto K, Sawa A, Iyo M. Increased Levels of Glutamate in Brains from Patients with Mood Disorders. *Biol Psychiatry*. dezembro de 2007;62(11):1310–6.
119. Levine J, Panchalingam K, Rapoport A, Gershon S, McClure RJ, Pettegrew JW. Increased cerebrospinal fluid glutamine levels in depressed patients. *Biol Psychiatry*. abril de 2000;47(7):586–93.
120. Mitani H, Shirayama Y, Yamada T, Maeda K, Ashby CR, Kawahara R. Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. agosto de 2006;30(6):1155–8.
121. Feyissa AM, Chandran A, Stockmeier CA, Karolewicz B. Reduced levels of NR2A and NR2B subunits of NMDA receptor and PSD-95 in the prefrontal cortex in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. fevereiro de 2009;33(1):70–5.
122. Karolewicz B, Szebeni K, Gilmore T, Maciag D, Stockmeier CA, Ordway GA. Elevated levels of NR2A and PSD-95 in the lateral amygdala in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. março de 2009;12(2):143–53.
123. Karolewicz B, Stockmeier CA, Ordway GA. Elevated Levels of the NR2C Subunit of the NMDA Receptor in the Locus Coeruleus in Depression. *Neuropsychopharmacology*. agosto de 2005;30(8):1557–67.
124. Sanacora G, Banasr M. From Pathophysiology to Novel Antidepressant Drugs: Glial Contributions to the Pathology and Treatment of Mood Disorders. *Biol Psychiatry*. junho de 2013;73(12):1172–9.
125. Duman RS, Sanacora G, Krystal JH. Altered Connectivity in Depression: GABA and Glutamate Neurotransmitter Deficits and Reversal by Novel Treatments. *Neuron*. abril de 2019;102(1):75–90.

126. Gerhard DM, Wohleb ES, Duman RS. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity. *Drug Discov Today*. março de 2016;21(3):454–64.
127. Stahl SM. *Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications* [Internet]. 5^o ed. Cambridge University Press; 2021 [citado 7 de abril de 2024]. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/9781108975292/type/book>
128. Duman RS, Aghajanian GK, Sanacora G, Krystal JH. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nat Med*. março de 2016;22(3):238–49.
129. Li Y, Mu Y, Gage FH. Development of Neural Circuits in the Adult Hippocampus. Em: *Current Topics in Developmental Biology* [Internet]. Elsevier; 2009 [citado 12 de abril de 2024]. p. 149–74. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0070215309012058>
130. Palazidou E. The neurobiology of depression. *Br Med Bull*. 1^o de março de 2012;101(1):127–45.
131. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*. novembro de 1998;4(11):1313–7.
132. Joshi SH, Espinoza RT, Pirnia T, Shi J, Wang Y, Ayers B, et al. Structural Plasticity of the Hippocampus and Amygdala Induced by Electroconvulsive Therapy in Major Depression. *Biol Psychiatry*. fevereiro de 2016;79(4):282–92.
133. Maller JJ, Broadhouse K, Rush AJ, Gordon E, Koslow S, Grieve SM. Increased hippocampal tail volume predicts depression status and remission to anti-depressant medications in major depression. *Mol Psychiatry*. agosto de 2018;23(8):1737–44.
134. Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology*. janeiro de 2010;35(1):192–216.
135. Cole J, Toga AW, Hojatkashani C, Thompson P, Costafreda SG, Cleare AJ, et al. Subregional hippocampal deformations in major depressive disorder. *J Affect Disord*. outubro de 2010;126(1–2):272–7.
136. Frodl TS, Koutsouleris N, Bottlender R, Born C, Jäger M, Scupin I, et al. Depression-Related Variation in Brain Morphology Over 3 Years: Effects of Stress? *Arch Gen Psychiatry*. 6 de outubro de 2008;65(10):1156.
137. Sapolsky RM. Glucocorticoids and Hippocampal Atrophy in Neuropsychiatric Disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 1^o de outubro de 2000;57(10):925.
138. Hinwood M, Morandini J, Day TA, Walker FR. Evidence that Microglia Mediate the Neurobiological Effects of Chronic Psychological Stress on the Medial Prefrontal Cortex. *Cereb Cortex*. 1^o de junho de 2012;22(6):1442–54.
139. Li X, Gianoulis TA, Yip KY, Gerstein M, Snyder M. Extensive In Vivo Metabolite-Protein Interactions Revealed by Large-Scale Systematic Analyses. *Cell*. novembro de 2010;143(4):639–50.
140. Liu RJ, Aghajanian GK. Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: Role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proc Natl Acad Sci*. 8 de janeiro de 2008;105(1):359–64.
141. McEwen BS. Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. setembro de 2010;1204(s1):38–59.
142. Hamani C, Mayberg H, Stone S, Laxton A, Haber S, Lozano AM. The Subcallosal Cingulate Gyrus in the Context of Major Depression. *Biol Psychiatry*. fevereiro de 2011;69(4):301–8.
143. Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Wei J, Dilley G, Pittman SD, Meltzer HY, et al.

- Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression**See accompanying Editorial, in this issue. *Biol Psychiatry*. maio de 1999;45(9):1085–98.
144. Drevets WC. Functional Neuroimaging Studies of Depression: The Anatomy of Melancholia. *Annu Rev Med*. fevereiro de 1998;49(1):341–61.
 145. Savitz J, Drevets WC. Bipolar and major depressive disorder: neuroimaging the developmental-degenerative divide. *Neurosci Biobehav Rev*. maio de 2009;33(5):699–771.
 146. MacDonald AW, Cohen JD, Stenger VA, Carter CS. Dissociating the role of the dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex in cognitive control. *Science*. 9 de junho de 2000;288(5472):1835–8.
 147. Hercher C, Turecki G, Mechawar N. Through the looking glass: Examining neuroanatomical evidence for cellular alterations in major depression. *J Psychiatr Res*. julho de 2009;43(11):947–61.
 148. Mayberg HS, Liotti M, Brannan SK, McGinnis S, Mahurin RK, Jerabek PA, et al. Reciprocal Limbic-Cortical Function and Negative Mood: Converging PET Findings in Depression and Normal Sadness. *Am J Psychiatry*. 1º de maio de 1999;156(5):675–82.
 149. Cerullo MA, Eliassen JC, Smith CT, Fleck DE, Nelson EB, Strawn JR, et al. Bipolar I disorder and major depressive disorder show similar brain activation during depression. *Bipolar Disord*. novembro de 2014;16(7):703–12.
 150. Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp*. junho de 2008;29(6):683–95.
 151. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. março de 2001;69(3):89–95.
 152. Woods AJ, Antal A, Bikson M, Boggio PS, Brunoni AR, Celnik P, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol*. fevereiro de 2016;127(2):1031–48.
 153. Pine DS, Leibenluft E. Biomarkers With a Mechanistic Focus. *JAMA Psychiatry*. 1º de julho de 2015;72(7):633.
 154. Davis J, Maes M, Andreazza A, McGrath JJ, Tye SJ, Berk M. Towards a classification of biomarkers of neuropsychiatric disease: from encompass to compass. *Mol Psychiatry*. fevereiro de 2015;20(2):152–3.
 155. Guest PC, Martins-de-Souza D, Schwarz E, Rahmoune H, Alsaif M, Tomasik J, et al. Proteomic profiling in schizophrenia: enabling stratification for more effective treatment. *Genome Med*. 2013;5(3):25.
 156. Scarr E, Millan MJ, Bahn S, Bertolino A, Turck CW, Kapur S, et al. Biomarkers for Psychiatry: The Journey from Fantasy to Fact, a Report of the 2013 CINP Think Tank: Figure 1. *Int J Neuropsychopharmacol*. setembro de 2015;18(10):pyv042.
 157. Dean B. Dissecting the Syndrome of Schizophrenia: Progress toward Clinically Useful Biomarkers. *Schizophr Res Treat*. 2011;2011:614730.
 158. McMahon FJ. Population-Based Estimates of Heritability Shed New Light on Clinical Features of Major Depression. *Am J Psychiatry*. novembro de 2018;175(11):1058–60.
 159. Flint J, Kendler KS. The Genetics of Major Depression. *Neuron*. fevereiro de 2014;81(3):484–503.
 160. Munafò MR. Candidate gene studies in the 21st century: meta-analysis, mediation, moderation. *Genes Brain Behav*. fevereiro de 2006;5(S1):3–8.
 161. Sullivan PF, Agrawal A, Bulik CM, Andreassen OA, Børglum AD, Breen G, et al. Psychiatric Genomics: An Update and an Agenda. *Am J Psychiatry*. janeiro de 2018;175(1):15–27.

162. Ormel J, Hartman CA, Snieder H. The genetics of depression: successful genome-wide association studies introduce new challenges. *Transl Psychiatry*. dezembro de 2019;9(1):114.
163. Civelek M, Luskis AJ. Systems genetics approaches to understand complex traits. *Nat Rev Genet*. janeiro de 2014;15(1):34–48.
164. Dupont C, Armant D, Brenner C. Epigenetics: Definition, Mechanisms and Clinical Perspective. *Semin Reprod Med*. setembro de 2009;27(05):351–7.
165. Rozek LS, Dolinoy DC, Sartor MA, Omenn GS. Epigenetics: relevance and implications for public health. *Annu Rev Public Health*. 2014;35:105–22.
166. Martin EM, Fry RC. Environmental Influences on the Epigenome: Exposure- Associated DNA Methylation in Human Populations. *Annu Rev Public Health*. 1º de abril de 2018;39(1):309–33.
167. Wu C t., Morris JR. Genes, Genetics, and Epigenetics: A Correspondence. *Science*. 10 de agosto de 2001;293(5532):1103–5.
168. Uchida S, Yamagata H, Seki T, Watanabe Y. Epigenetic mechanisms of major depression: Targeting neuronal plasticity. *Psychiatry Clin Neurosci*. abril de 2018;72(4):212–27.
169. Vialou V, Feng J, Robison AJ, Nestler EJ. Epigenetic Mechanisms of Depression and Antidepressant Action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 6 de janeiro de 2013;53(1):59–87.
170. Musci RJ, Augustinavicius JL, Volk H. Gene-Environment Interactions in Psychiatry: Recent Evidence and Clinical Implications. *Curr Psychiatry Rep*. setembro de 2019;21(9):81.
171. Zhang TY, Labonté B, Wen XL, Turecki G, Meaney MJ. Epigenetic Mechanisms for the Early Environmental Regulation of Hippocampal Glucocorticoid Receptor Gene Expression in Rodents and Humans. *Neuropsychopharmacology*. janeiro de 2013;38(1):111–23.
172. Penner-Goeke S, Binder EB. Epigenetics and depression. *Dialogues Clin Neurosci*. 31 de dezembro de 2019;21(4):397–405.
173. Kular L, Kular S. Epigenetics applied to psychiatry: Clinical opportunities and future challenges. *Psychiatry Clin Neurosci*. abril de 2018;72(4):195–211.
174. Gandal MJ, Zhang P, Hadjimichael E, Walker RL, Chen C, Liu S, et al. Transcriptome-wide isoform-level dysregulation in ASD, schizophrenia, and bipolar disorder. *Science*. 14 de dezembro de 2018;362(6420):eaat8127.
175. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, Thurman RE, Haugen E, Wang H, et al. Systematic Localization of Common Disease-Associated Variation in Regulatory DNA. *Science*. 7 de setembro de 2012;337(6099):1190–5.
176. Wang X. Systematic identification of microRNA functions by combining target prediction and expression profiling. *Nucleic Acids Res*. 6 de março de 2006;34(5):1646–52.
177. Gururajan A, Naughton M, Scott K, O’Connor R, Moloney G, Clarke G, et al. MicroRNAs as biomarkers for major depression: a role for let-7b and let-7c. *Transl Psychiatry*. 2 de agosto de 2016;6(8):e862–e862.
178. Reilly SK, Yin J, Ayoub AE, Emera D, Leng J, Cotney J, et al. Evolutionary changes in promoter and enhancer activity during human corticogenesis. *Science*. 6 de março de 2015;347(6226):1155–9.
179. The GTEx Consortium, Ardlie KG, Deluca DS, Segrè AV, Sullivan TJ, Young TR, et al. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) pilot analysis: Multitissue gene regulation in humans. *Science*. 8 de maio de 2015;348(6235):648–60.
180. Ciobanu LG, Sachdev PS, Trollor JN, Reppermund S, Thalamuthu A, Mather KA, et al. Co-expression network analysis of peripheral blood transcriptome identifies


- dysregulated protein processing in endoplasmic reticulum and immune response in recurrent MDD in older adults. *J Psychiatr Res.* 2018;107:19–27.
181. Woods AG, Sokolowska I, Taurines R, Gerlach M, Dudley E, Thome J, et al. Potential biomarkers in psychiatry: focus on the cholesterol system. *J Cell Mol Med.* junho de 2012;16(6):1184–95.
 182. Patel S. Role of proteomics in biomarker discovery and psychiatric disorders: current status, potentials, limitations and future challenges. *Expert Rev Proteomics.* junho de 2012;9(3):249–65.
 183. Aslam B, Basit M, Nisar MA, Khurshid M, Rasool MH. Proteomics: Technologies and Their Applications. *J Chromatogr Sci.* 2017;55(2):182–96.
 184. Cox J, Mann M. Is Proteomics the New Genomics? *Cell.* agosto de 2007;130(3):395–8.
 185. Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature.* junho de 2000;405(6788):837–46.
 186. Boersema PJ, Kahraman A, Picotti P. Proteomics beyond large-scale protein expression analysis. *Curr Opin Biotechnol.* agosto de 2015;34:162–70.
 187. Rozanova S, Barkovits K, Nikolov M, Schmidt C, Urlaub H, Marcus K. Quantitative Mass Spectrometry-Based Proteomics: An Overview. Em: Marcus K, Eisenacher M, Sitek B, organizadores. *Quantitative Methods in Proteomics* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2021 [citado 17 de fevereiro de 2024]. p. 85–116. (Methods in Molecular Biology; vol. 2228). Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-1024-4_8
 188. Rho SC, You SY, Kim YS, Hwang DH. From proteomics toward systems biology: integration of different types of proteomics data into network models. *BMB Rep.* 2008;41(3):184–93.
 189. Geyer PE, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Revisiting biomarker discovery by plasma proteomics. *Mol Syst Biol.* 2017;13(9):942.
 190. Lequin RM. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clin Chem.* 1º de dezembro de 2005;51(12):2415–8.
 191. Kurien B, Scofield R. Western blotting. *Methods.* abril de 2006;38(4):283–93.
 192. Chen CS, Zhu H. Protein Microarrays. *BioTechniques.* abril de 2006;40(4):423–9.
 193. Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* julho de 2016;17(7):451–9.
 194. Kaddurah-Daouk R, Krishnan KRR. Metabolomics: A Global Biochemical Approach to the Study of Central Nervous System Diseases. *Neuropsychopharmacology.* janeiro de 2009;34(1):173–86.
 195. Sperber H, Mathieu J, Wang Y, Ferreccio A, Hesson J, Xu Z, et al. The metabolome regulates the epigenetic landscape during naive-to-primed human embryonic stem cell transition. *Nat Cell Biol.* dezembro de 2015;17(12):1523–35.
 196. Wellen KE, Hatzivassiliou G, Sachdeva UM, Bui TV, Cross JR, Thompson CB. ATP-Citrate Lyase Links Cellular Metabolism to Histone Acetylation. *Science.* 22 de maio de 2009;324(5930):1076–80.
 197. Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, Sahar S, Hirayama J, Chen D, et al. The NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT1 Modulates CLOCK-Mediated Chromatin Remodeling and Circadian Control. *Cell.* julho de 2008;134(2):329–40.
 198. Richieri GV, Kleinfeld AM. Unbound free fatty acid levels in human serum. *J Lipid Res.* fevereiro de 1995;36(2):229–40.
 199. Li S, Park Y, Duraisingham S, Strobel FH, Khan N, Soltow QA, et al. Predicting Network Activity from High Throughput Metabolomics. Ouzounis CA, organizador. *PLoS Comput Biol.* 4 de julho de 2013;9(7):e1003123.
 200. Lausted C, Lee I, Zhou Y, Qin S, Sung J, Price ND, et al. Systems Approach to

- Neurodegenerative Disease Biomarker Discovery. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 6 de janeiro de 2014;54(1):457–81.
201. Simopoulos CMA, Figeys D, Lavallée-Adam M. Novel Bioinformatics Strategies Driving Dynamic Metaproteomic Studies. Em: Geddes-McAlister J, organizador. *Proteomics in Systems Biology* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2022 [citado 4 de maio de 2024]. p. 319–38. (Methods in Molecular Biology; vol. 2456). Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-2124-0_22
 202. Alawieh A, Zaraket FA, Li JL, Mondello S, Nokkari A, Razafsha M, et al. Systems Biology, Bioinformatics, and Biomarkers in Neuropsychiatry. *Front Neurosci* [Internet]. 2012 [citado 5 de maio de 2024];6. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2012.00187/abstract>
 203. Wang K, Lee I, Carlson G, Hood L, Galas D. Systems Biology and the Discovery of Diagnostic Biomarkers. *Dis Markers.* 2010;28(4):199–207.
 204. Aderem A. Systems Biology: Its Practice and Challenges. *Cell.* maio de 2005;121(4):511–3.
 205. Loscalzo J. Network Medicine: Systems Biology in Health and Disease. Em: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, organizadores. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e* [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018 [citado 5 de maio de 2024]. Disponível em: <accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1156522148>
 206. Yan J, Risacher SL, Shen L, Saykin AJ. Network approaches to systems biology analysis of complex disease: integrative methods for multi-omics data. *Brief Bioinform* [Internet]. 30 de junho de 2017 [citado 5 de maio de 2024]; Disponível em: <https://academic.oup.com/bib/article-lookup/doi/10.1093/bib/bbx066>
 207. Kirschner MW. The Meaning of Systems Biology. *Cell.* maio de 2005;121(4):503–4.
 208. Grennan KS, Chen C, Gershon ES, Liu C. Molecular network analysis enhances understanding of the biology of mental disorders. *BioEssays.* junho de 2014;36(6):606–16.
 209. Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet.* janeiro de 2011;12(1):56–68.
 210. Jia P, Kao CF, Kuo PH, Zhao Z. A comprehensive network and pathway analysis of candidate genes in major depressive disorder. *BMC Syst Biol.* dezembro de 2011;5(S3):S12.
 211. Liu Y, Fan P, Zhang S, Wang Y, Liu D. Prioritization and comprehensive analysis of genes related to major depressive disorder. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(6):e659.
 212. Shi J, Walker M. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) for Interpreting Gene Expression Profiles. *Curr Bioinforma.* 1º de maio de 2007;2(2):133–7.
 213. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, et al. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci.* 25 de outubro de 2005;102(43):15545–50.
 214. Stevens R. Ontology-based knowledge representation for bioinformatics. *Brief Bioinform.* 1º de janeiro de 2000;1(4):398–414.
 215. Hoehndorf R, Schofield PN, Gkoutos GV. The role of ontologies in biological and biomedical research: a functional perspective. *Brief Bioinform.* 1º de novembro de 2015;16(6):1069–80.
 216. Gaudet P, Škunca N, Hu JC, Dessimoz C. Primer on the Gene Ontology. Em: Dessimoz C, Škunca N, organizadores. *The Gene Ontology Handbook* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2017 [citado 17 de fevereiro de 2024]. p. 25–37. (Methods in Molecular Biology; vol. 1446). Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3743-1_3

217. The Gene Ontology Consortium. Expansion of the Gene Ontology knowledgebase and resources. *Nucleic Acids Res.* 4 de janeiro de 2017;45(D1):D331–8.
218. Thomas PD. The Gene Ontology and the Meaning of Biological Function. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2017;1446:15–24.
219. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, et al. Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nat Genet.* maio de 2000;25(1):25–9.
220. Liu ZP, Wang Y, Zhang XS, Chen L. Network-based analysis of complex diseases. *IET Syst Biol.* fevereiro de 2012;6(1):22–33.
221. Barabási AL, Oltvai ZN. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat Rev Genet.* fevereiro de 2004;5(2):101–13.
222. Martins-de-Souza D. Proteomics, metabolomics, and protein interactomics in the characterization of the molecular features of major depressive disorder. *Dialogues Clin Neurosci.* 31 de março de 2014;16(1):63–73.
223. Guo L, Zhang W, Chang S, Zhang L, Ott J, Wang J. MK4MDD: a multi-level knowledge base and analysis platform for major depressive disorder. *PloS One.* 2012;7(10):e46335.
224. Furlong LI. Human diseases through the lens of network biology. *Trends Genet TIG.* março de 2013;29(3):150–9.
225. Liu ZP. Identifying network-based biomarkers of complex diseases from high-throughput data. *Biomark Med.* junho de 2016;10(6):633–50.
226. Oommen AM, Cunningham S, O'Súilleabháin PS, Hughes BM, Joshi L. An integrative network analysis framework for identifying molecular functions in complex disorders examining major depressive disorder as a test case. *Sci Rep.* 2021;11(1):9645.
227. Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, et al. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res.* 8 de janeiro de 2019;47(D1):D607–13.
228. Pomaznoy M, Ha B, Peters B. GOnet: a tool for interactive Gene Ontology analysis. *BMC Bioinformatics.* dezembro de 2018;19(1):470.
229. Huang JK, Carlin DE, Yu MK, Zhang W, Kreisberg JF, Tamayo P, et al. Systematic Evaluation of Molecular Networks for Discovery of Disease Genes. *Cell Syst.* abril de 2018;6(4):484–495.e5.
230. Goh KI, Cusick ME, Valle D, Childs B, Vidal M, Barabási AL. The human disease network. *Proc Natl Acad Sci.* 22 de maio de 2007;104(21):8685–90.
231. Holzinger ER, Ritchie MD. Integrating heterogeneous high-throughput data for meta-dimensional pharmacogenomics and disease-related studies. *Pharmacogenomics.* janeiro de 2012;13(2):213–22.
232. Poultney CS, Greenfield A, Bonneau R. Integrated Inference and Analysis of Regulatory Networks from Multi-Level Measurements. *Em: Methods in Cell Biology [Internet]. Elsevier; 2012 [citado 12 de maio de 2024]. p. 19–56. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123884039000023>*
233. Song J, Singh M. How and when should interactome-derived clusters be used to predict functional modules and protein function? *Bioinforma Oxf Engl.* 1º de dezembro de 2009;25(23):3143–50.
234. Farmer A, Breen G, Brewster S, Craddock N, Gill M, Korszun A, et al. The Depression Network (DeNT) Study: methodology and sociodemographic characteristics of the first 470 affected sibling pairs from a large multi-site linkage genetic study. *BMC Psychiatry.* 9 de dezembro de 2004;4:42.
235. Kao CF, Fang YS, Zhao Z, Kuo PH. Prioritization and evaluation of depression candidate genes by combining multidimensional data resources. *PloS One.* 6 de abril de

- 2011;6(4):e18696.
236. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry*. outubro de 2000;157(10):1552–62.
 237. Fan T, Hu Y, Xin J, Zhao M, Wang J. Analyzing the genes and pathways related to major depressive disorder via a systems biology approach. *Brain Behav* [Internet]. fevereiro de 2020 [citado 18 de setembro de 2022];10(2). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/brb3.1502>
 238. Bot M, Chan MK, Jansen R, Lamers F, Vogelzangs N, Steiner J, et al. Serum proteomic profiling of major depressive disorder. *Transl Psychiatry*. julho de 2015;5(7):e599–e599.
 239. Diniz BS, Lin CW, Sibille E, Tseng G, Lotrich F, Aizenstein HJ, et al. Circulating biosignatures of late-life depression (LLD): Towards a comprehensive, data-driven approach to understanding LLD pathophysiology. *J Psychiatr Res*. novembro de 2016;82:1–7.
 240. Domenici E, Willé DR, Tozzi F, Prokopenko I, Miller S, McKeown A, et al. Plasma Protein Biomarkers for Depression and Schizophrenia by Multi Analyte Profiling of Case-Control Collections. Domschke K, organizador. *PLoS ONE*. 11 de fevereiro de 2010;5(2):e9166.
 241. Lee MY, Kim EY, Kim SH, Cho KC, Ha K, Kim KP, et al. Discovery of serum protein biomarkers in drug-free patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. agosto de 2016;69:60–8.
 242. Ren J, Zhao G, Sun X, Liu H, Jiang P, Chen J, et al. Identification of plasma biomarkers for distinguishing bipolar depression from major depressive disorder by iTRAQ-coupled LC–MS/MS and bioinformatics analysis. *Psychoneuroendocrinology*. dezembro de 2017;86:17–24.
 243. Stelzhammer V, Haenisch F, Chan MK, Cooper JD, Steiner J, Steeb H, et al. Proteomic changes in serum of first onset, antidepressant drug-naïve major depression patients. *Int J Neuropsychopharmacol*. outubro de 2014;17(10):1599–608.
 244. Wang Q, Su X, Jiang X, Dong X, Fan Y, Zhang J, et al. iTRAQ technology-based identification of human peripheral serum proteins associated with depression. *Neuroscience*. agosto de 2016;330:291–325.
 245. Xu HB, Zhang RF, Luo D, Zhou Y, Wang Y, Fang L, et al. Comparative proteomic analysis of plasma from major depressive patients: identification of proteins associated with lipid metabolism and immunoregulation. *Int J Neuropsychopharmacol*. novembro de 2012;15(10):1413–25.
 246. Ulgen E, Ozisik O, Sezerman OU. pathfindR: An R Package for Comprehensive Identification of Enriched Pathways in Omics Data Through Active Subnetworks. *Front Genet*. 25 de setembro de 2019;10:858.
 247. Dessimoz C, Škunca N, organizadores. *The Gene Ontology Handbook* [Internet]. 1º ed. New York, NY: Springer New York; 2017 [citado 1º de outubro de 2023]. 305 p. (Methods in Molecular Biology; vol. 1446). Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3743-1>
 248. The R Foundation. *The R Project for Statistical Computing* [Internet]. 2020 [citado 30 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.r-project.org/>
 249. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Res*. novembro de 2003;13(11):2498–504.
 250. Doncheva NT, Morris JH, Gorodkin J, Jensen LJ. Cytoscape StringApp: Network Analysis and Visualization of Proteomics Data. *J Proteome Res*. 1º de fevereiro de 2019;18(2):623–32.

ANEXO A - COMPROVANTE DE ACEITE DO ARTIGO

Decision on submission to Journal of Psychiatric Research 



Journal of Psychiatric Research <em@editorialmanager.com>
to me ▾

Wed, Jan 15, 10:34 PM (3 days ago) ☆ ☺ ↶ ⋮

Manuscript Number: **JPSYCHIATRRES-D-24-02721R1**

The relevance of endoplasmic reticulum lumen and Anoctamin-8 for major depression: results from a systems biology study

Dear Ms. Cid de Azevedo,

Thank you for submitting your manuscript to Journal of Psychiatric Research.

I am pleased to inform you that your manuscript has been accepted for publication.

My comments, and any reviewer comments, are below.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department. We will create a proof which you will be asked to check, and you will also be asked to complete a number of online forms required for publication. If we need additional information from you during the production process, we will contact you directly.

We appreciate you submitting your manuscript to Journal of Psychiatric Research and hope you will consider us again for future submissions.

We encourage authors of original research papers to share the research objects – including raw data, methods, protocols, software, hardware and other outputs – associated with their paper. More information on how our open access Research Elements journals can help you do this is available at https://www.elsevier.com/authors/tools-and-resources/research-elements-journals?dgcid=ec_em_research_elements_email.

Kind regards,
Eric Hollander
Editor in Chief

Journal of Psychiatric Research

Editor and Reviewer comments:

Reviewer #1: No additional comments.

ANEXO B – CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL

Certificamos que **SOFIA CID DE AZEVEDO, JACSON GABRIEL FEITEN, MARCO ANTONIO KNOB CALDIERARO** apresentou o trabalho intitulado **ESTUDOS DE PROTEÔMICA EM TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR: UMA ABORDAGEM DE BIOLOGIA DE SISTEMAS**, na categoria **ORAL** durante o **30º Jornada CELG 2021** online, no período de **24 a 26 de junho de 2021**.

Porto Alegre, 26 de junho de 2021.


Dr. Felix Henrique Paim Kessler
Presidente do CELG


Dr. Thiago Gatti Pianca
Diretor Científico do CELG

REALIZAÇÃO
 celg
Centro de Estudos Luis Guedes