

Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2023; 16(3):473-482

doi: 10.26559/mersinsbd.1271378

Majör depresyon hastalarında BDNF gen polimorfizmi (rs6265) ile BDNF gen ekspresyon düzeylerinin araştırılması

Ümit Karakaş¹, Kenan Çevik², Mustafa Ertan Ay², Gurbet Doğru Özdemir²,
Alper Zıblak³, Ayşe Nur İnci Kenar⁴, Didem Derici Yıldırım⁵,
Mehmet Emin Erdal²

¹ Bayburt Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO, Eczane Hizmetleri Bölümü, Bayburt, Türkiye

² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Mersin, Türkiye

³ Denizli Devlet Hastanesi Psikiyatri Kliniği, Denizli, Türkiye

⁴ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri ABD, Denizli, Türkiye

⁵ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD, Mersin, Türkiye

Öz

Amaç: Beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) genetik, moleküler ve hücrel mekanizmalarının ve bunun nöroplastisite ile ilişkisinin daha iyi anlaşılması, majör depresyonda (MD) yeni ilaçlar için gelecekteki terapötik hedeflerin bulunmasında çok önemli bir rol oynayabilir. Bu çalışma, BDNF polimorfizmlerinin MD'deki kesin rolüne ilişkin hala çelişkili sonuçlar olduğundan, MD'de BDNF ile ilişkili polimorfizm (rs6265) ve ekspresyon ilişkisini anlamak amacıyla planlandı. **Yöntem:** Bu olgu-kontrol çalışmasında, DSM-5 ölçütlerine göre MD'li 51 hasta ve 75 sağlıklı kontrole ait kanlardan BDNF gen Val66Met (rs6265) polimorfizmleri için dizayn edilmiş primerler ile Real-Time PCR ile tek nükleotid polimorfizm çalışmaları yapıldı. Gen ekspresyon analizleri için total RNA kullanıldı. Kantitatif Real-Time PCR yöntemi ile saptanan, MD ve kontrol gruplarındaki BDNF genine ait ekspresyon düzeyleri ile polimorfizmler arasındaki ilişki istatistiksel yöntemlerle incelendi. **Bulgular:** Erkek ve kadınlarda, genotip ile grup ve alel frekansı ile grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Alel ile MD arasındaki ilişkide ve genotip ile MD arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür. Genotip grupları arasında BDNF ekspresyon düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. Hem MD grubu hem de kontrol grubu için BDNF'nin polimorfik genotipleri arasında ekspresyon düzeyleri bakımından fark gözlenmemiştir. **Sonuç:** Çalışma bulguları istatistiksel olarak önemli olmamasına rağmen rapor edilmiş önceki çalışmaların da ışığında BDNF varyantlarının daha derinlemesine analizlerinin, gelecekte farmasötik müdahale ve majör depresyonun hassas tıbbi için olası yeni hedeflere işaret edebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca kişiselleştirilmiş tıp çağında, klinik müdahalelerin etkinliğini etkileyebilecek hem küresel hem de spesifik faktörlerin anlaşılması, tıp alanında önemli ilerlemeler sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, ekspresyon, majör depresyon, polimorfizm, rs6265

Yazının geliş tarihi: 30.03.2023

Yazının kabul tarihi: 14.06.2023

Sorumlu yazar: Ümit Karakaş, Bayburt Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, Bayburt/Türkiye. Tel: 0506 3402347, E-posta: umitk.kas@gmail.com

Association study of BDNF gene polymorphism (rs6265) and BDNF gene expression levels in patients with major depression

Abstract

Aim: A better understanding of the genetic, molecular, and cellular mechanisms of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its relationship with neuroplasticity could be pivotal in finding future therapeutic targets for new drugs in major depression (MD). This study was planned to understand the relationship between BDNF-related polymorphism (rs6265) and expression in MD. There are still conflicting results regarding the precise role of BDNF polymorphisms in MD. **Method:** In this case-control study, single nucleotide amplification studies were performed by Real-Time PCR with primers designed for *BDNF* gene Val66Met (rs6265) polymorphisms from the blood of 51 patients with MD and 75 healthy controls according to DSM-5 criteria. The total RNA obtained was used for gene expression analyses. The relationship between the expression levels of the *BDNF* gene in the MD and control groups, which were determined by the quantitative Real-Time PCR method, and the polymorphisms were analyzed by statistical methods. **Results:** No statistically significant correlation was observed between the genotype and the group also between the allele frequency and the group in males and females. It was observed that there was no significant relationship between allele and MD and between genotype and MD. There is no statistically significant difference between genotype groups regarding BDNF expression levels. No difference was observed between the polymorphic genotypes of BDNF in terms of expression levels for the MD and the control groups. **Conclusion:** Although the study findings were not statistically significant, we think that in the light of previous studies reported, more in-depth analyzes of BDNF variants may point to possible new targets for future pharmaceutical intervention and precision medicine for major depression. In addition, in the age of personalized medicine, understanding global and specific factors that can affect the effectiveness of clinical interventions can lead to significant advances in medicine.

Keywords: Brain-derived neurotrophic factor, expression, major depression, polymorphism, rs6265

Giriş

Majör depresyon (MD), önemli morbidite ve mortalite ile ilişkili, homojen olmayan, kompleks ve oldukça yaygın mental bir rahatsızlıktır.¹ MD'nin semptomolojisi, enerji eksikliği, düşük benlik saygısı, üzüntü, ilgi ve zevk kaybı ile sosyal geri çekilme gibi geniş bir yelpazeyi kapsar. Depresif bozukluklar için mevcut tedaviler esas olarak monoaminerjik sistem düzenlemesine dayanmaktadır.¹ Bununla birlikte, depresif hastaların yaklaşık %30'u bu tedaviye kısmen veya tamamen dirençlidir ve bu durum, hastalığın araştırması konusunda önemli bir ihtiyaç göstergesidir.¹ MD'nin on yıl sonrasına kadar küresel hastalık yükünün önde gelen nedeni olacağı tahmin edilmektedir.²

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin (NT)-3 ve NT-4'ü içeren

nörotrofin ailesinin bir üyesidir.² Bu nörotrofinler arasında BDNF, merkezi sinir sisteminde yüksek düzeyde ekspresyonu ve beyindeki gelişim, morfoloji ve sinaptik plastisite ve işlev üzerindeki derin etkileri ile öne çıkmaktadır. BDNF, şizofreni, zihinsel yetersizlikler, otizm ve depresyon gibi bir dizi psikiyatrik bozukluk ve bunların tedavileri ile ilişkisi nedeniyle son on yılda geniş çapta çalışılmıştır.² Çalışmalar arttıkça, BDNF'nin MDB'nin patofizyolojisine ve/veya terapötik ilerlemesine dâhil olduğu desteklenmektedir.²

Dikkat çekici bir şekilde, *BDNF* geninde yüzden fazla polimorfizm tanımlanmıştır.³ Bilinen pek çok varyant kodlama yapmayan bölgelerde mevcut olsa da bunların işlevsel sonuçlarının anlaşılması sınırlı kalmaktadır. Üzerinde en çok çalışılan tek nükleotid polimorfizmi (SNP), *BDNF*

geninin prodomain bölgesindeki Val66Met (G196A, rs6265) polimorfizmidir.⁴ Bu SNP için bir birey heterozigot (Val66Met) veya homozigot (Met66Met) olabilir. Bu SNP'nin dünya çapındaki prevalansı yaklaşık %20'dir ve Doğu Asya'daki bazı popülasyonlarda %72'ye varan bir insidans bildirilmektedir.⁴ *BDNF* geninin prodomain bölgesinde bulunan bu süstitüsyon, proBDNF'nin BDNF prodomaini/propeptidi ile sortiline bağlanma etkileşimi yaratır.⁴ Sonuç olarak bu polimorfizm ile BDNF'nin aktiviteye bağlı salınımında bir azalma meydana gelmesine rağmen yapısal salınımında herhangi bir değişiklik bildirilmemiştir. BDNF salınımındaki azalmanın ise doza bağlı olduğu bildirilmiştir.⁴ Buna ek olarak homozigot bireylerin, heterozigot bireylerle karşılaştırıldıklarında önemli ölçüde daha az salınım gösterdikleri rapor edilmiştir.⁴

rs6265 varyantı, BDNF mRNA'sının dendritlere hedeflenmesi için gerekli olan bir translin bağlanma bölgesini bozduğu ve ardından G→A geçişinin, hipokampal işlevi ve epizodik belleği etkilediği ifade edilmektedir.³ Ayrıca, *BDNF* genindeki "G" alelinin bir "A" ile değiştirilmesi, bir *CpG* metilasyon bölgesini ortadan kaldırarak, örneğin depresif bozukluklar gibi çevresel olarak etkilenen fenotipleri kısmen açıklayabilen epigenetik ve genotipik etkileşime izin verdiği hipotezi kabul görmektedir.³

Literatürde BDNF ve MD arasında ciddi bir ilişkinin olduğu ifade ediliyor olsa da BDNF'nin ve *BDNF* polimorfizmlerinin MD'deki terapötik potansiyeli hala büyük ölçüde eksiklikler barındırmaktadır. Çalışmamızda, BDNF'nin ve *BDNF* polimorfizmlerinin MD'deki rolünün daha açık bir şekilde ortaya konulabilmesi amacıyla yola çıkarak rs6265 polimorfizminde genotip ile BDNF ekspresyonlarının MD patolojisindeki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma örnekleri XXX Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Majör Depresyon hastaları (n=51) ve sağlıklı kontrollerle (n=75)

yapıldı. Çalışmaya, Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği (HDDÖ) puanı en az 16 olan (18.04±2.95) ve Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı-5 (DSM-5) ölçütlerine göre MD'li, klinik olarak izlenen, 18-65 yaş aralığında 51 MD hastası alındı. Ailesinde nöropsikiyatrik hastalık öyküsü olmayan ve hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş toplam 75 sağlıklı birey kontrol grubu olarak seçildi. Her birey onam formu ile çalışmaya katılacaklarına dair onay vermişlerdir. Çalışmaya ait moleküler analizler XXX Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'de yapıldı. Etik onayı XXX Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (27.07.2017, 2017/224) alındı.

DNA izolasyonu ve genotip tayini

Periferik kandan DNA izolasyonu için manuel tuz ile çöktürme yöntemi kullanıldı.⁵ Hem PCR primerlerini hem de TaqMan problemlerini tasarlamak için Primer Express 3.0 (Applied Biosystems) kullanıldı. *BDNF* gen Val66Met (rs6265) polimorfizmleri için özel üretilmiş primer ve problemler dizayn edildi (Forward Primer 5'-AGGCAGTTCAAGAGGCTTGA-3', Reverse Primer 5'-TTCTGGTCCTCATCCAACAGCT-3', Prob G: 5'-Yakima Yellow-TGA(pdC)A(pdC)TTT(pdC)GAA(pdC)ACGTG ATA-BHQ-1-3', Prob A: 5'-FAM-TGA(pdC)A(pdC)TTT(pdC)GAA(pdC)A(pdC) ATGATA-BHQ-1-3').

Tek nükleotid polimorfizm amplifikasyon deneyleri sırasında her bir örnek için 5 µL DNA içeren 25 µL reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Reaksiyon karışımında DNA ile birlikte 10 µL 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) ve her primerden 2.5 µL, 0.8 µL VIC, 0.4 µL FAM ve 5 µL distile su yer aldı. Reaksiyon koşulları, 60°C'de 1 dakika ve 95°C'de 10 dakika ön inkübasyondan, ardından 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 1.5 dakika 40 döngüden dizayn edildi. Amplifikasyonlar ve analizler, alelik ayırım için SDS 2.0.6 yazılımı (Applied Biosystems) kullanılarak, ABI Prism 7500 Real-Time PCR Sisteminde (Applied Biosystems) yapıldı.

RNA izolasyonu, cDNA Eldesi ve Gen Ekspresyonu

RNA izolasyonu, 500 µl EDTA'lı periferik kandan, klasik single-step acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction yöntemi ile gerçekleştirildi.⁶ RNA'ların saflığı ve kalitesi spektrofotometrik olarak the CapitalBio NanoQ™ (China) ile değerlendirildi ve RNA saflık ölçümü yapıldı. Uygun RNA örneklerinden Thermal Cycler (Veriti, Applied Biosystems, ABD) cihazında 37°C'de 60 dk, 95°C'de 5 dk bekletilmesiyle cDNA'lar sentezlendi.

BDNF genine özgü primer-prob dizileri; www.ncbi.nlm.nih.gov/gene⁷ veri tabanında bulunan *BDNF* gen dizileri (NM_001143805.1) kullanılarak Primer Express 3.0 (Applied Biosystems) programı ile tasarlandı. Dizisini belirlediğimiz primer ve prob lar Metabion International AG (D-82152 Martinsried/Deutschland) tarafından sentezlendi (Forward Primer 5'-CAGGCCCGCTCATTCT-3' Reverse primer 5'-R-CATAGGTCCTCCGTCAAAGC-3' Prob 5'-FAM-TGGGCGTTGGTCAGAGT-ZNA4-BHQ-1-3'). *BDNF* gen ekspresyon düzeyleri Real-Time PCR cihazı (ABI Prism 7500, Applied Biosystems, Foster City, CA) kullanılarak Comparative CT ($\Delta\Delta Ct$) metodu ile belirlendi.

İstatistiksel Analiz

Ekspresyon düzeyinin normal dağılıma uygun dağılıp dağılmadığı, *Shapiro Wilk* testi ile incelenmiştir. Normal dağılım varsayımı sağlanmadığından, ekspresyon düzeyleri bakımından genotipler arasında farklılık olup olmadığı *Kruskal Wallis* testi ile incelenmiş olup, tanımlayıcı istatistik olarak Medyan[25P-75P] değerleri verilmiştir.

Genotiplerin *Hardy Weinberg* dengesinde olup olmadığı incelenmiştir. Aleller bakımından ekspresyon düzeyleri arasında fark olup olmadığı incelenirken *Mann Whitney U* testinden yararlanılmıştır.

Kategorik değişkenler arasında ilişki olup olmadığını incelemek amacıyla ki kare testinden yararlanılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Majör Depresyon Hasta ve Kontrol Gruplarının Sosyodemografik Bulguları

Çalışmamıza, 18-69 yaş arasında, majör depresyon tanısı almış 51 gönüllü hasta birey ve 75 gönüllü kontrol birey dahil edilmiş olup, bireylerin 88'i kadın (%69.84) ve 38'i erkek (%30.15) olmak üzere toplam 126 gönüllü birey dahil edilmiştir (yaş ortalamaları 39.73 ± 12.74 , kontrol grubunun yaş ortalaması 38.51 ± 12.17 ve hasta grubunun yaş ortalaması 41.55 ± 13.45). Cinsiyet bakımından değerlendirildiğinde; hasta ve kontrol gruplarında bulunan kadınların yaş ortalamaları 39.87 ± 14.01 olup erkeklerin ise 39.58 ± 9.53 olarak hesaplandı. Cinsiyetler bakımından yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Grupların eğitim durumları arasında, 51 bireyden oluşan hasta grubunun; 7'sinin (%13.72) üniversite mezunu, 19'unun (%37.25) lise mezunu ve 22'sinin (%43.13) ilköğretim mezunu olduğu, 1'inin (1.96) okuryazar, 2'sinin (%3.92) okuma yazma bilmediği belirlendi. 75 bireyden oluşan kontrol grubunun; 5'inin (6.66) lisansüstü, 23'ünün (%30.6) üniversite mezunu, 31'inin (%41.3) lise mezunu, 8'inin (%10.6) ilköğretim mezunu olduğu, 4'ünün (5.3) okuryazar, 3'ünün (%4) okuma yazma bilmediği tespit edildi. Medeni duruma göre; hasta bireylerin % 78.44' ünün evli, %21.56' sının bekâr; kontrol bireylerin %77.05' inin evli, %22.95' inin bekâr olduğu ve gruplar arasında oransal bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Hem hasta (%74.50) hem kontrol (%68) grubundaki bireylerin büyük bir kısmının kentsel bölgelerde yaşadığı tespit edildi. 11 (%21.56) hasta bireyin ailesinde psikiyatrik öykü geçmişi olduğu öğrenildi. Majör depresif 5 (%9.80) bireyin alkol kullandığı tespit edildi.

Alel Frekansları ve Genotip İfadeleri Bulguları

Hardy-Weinberg Denge Kontrolü yapıldığında hasta ve kontrol grubunda popülasyonun dengede olduğu gözlemlenmiştir (sırasıyla $p = 0.674$, $p = 0.786$). Yapılan analizlerde cinsiyet ile genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür ($p = 0.553$). Erkek ve kadınlarda ayrı ayrı bakıldığında genotip ile grup ve alel

frekansları ile grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (p değerleri Tablo 1’de belirtilmiştir).

Alel ile MD arasındaki ilişkide yine istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı

görülmüştür (p=0.173) (Tablo 2). Genotip ile MD arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olup olmadığı incelendiğinde genotip ile MD arasında ilişki olmadığı görülmüştür (p=0.217) (Tablo 2).

Tablo 1. Alel ve genotip frekanslarının cinsiyete göre istatistiksel analizi

Cinsiyet	Alel Frekansı n(%)			Genotip Frekansı n(%)			
	G	A	p	G/G	G/A	A/A	p
Erkek							
MD	17(70.8)	7(29.2)	0.776	5(41.7)	7(58.3)	0(0.0)	0.053
Kontrol	40(77.0)	12(23.0)		17(65.4)	6(23.1)	3(11.5)	
Kadın							
MD	68(87.2)	10(12.8)	0.057	30(76.9)	8(20.5)	1(2.6)	0.063
Kontrol	73(74.5)	25(25.5)		26(53.1)	21(42.9)	2(4.1)	

MD: Major depresyon, n: birey sayısı, p<0.05 istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir

Tablo 2. Alel ve Genotip ile hastalık arasındaki istatistiksel ilişki

		MD n (%)	Kontrol n (%)	p Değeri
Alel	G	85 (83.3)	113 (75.3)	0.173
	A	17 (16.7)	37 (24.7)	
Genotip	GG	35(68.6)	43(57.3)	0.217
	GA	15(29.4)	27(36.0)	
	AA	1(2.0)	5(6.7)	

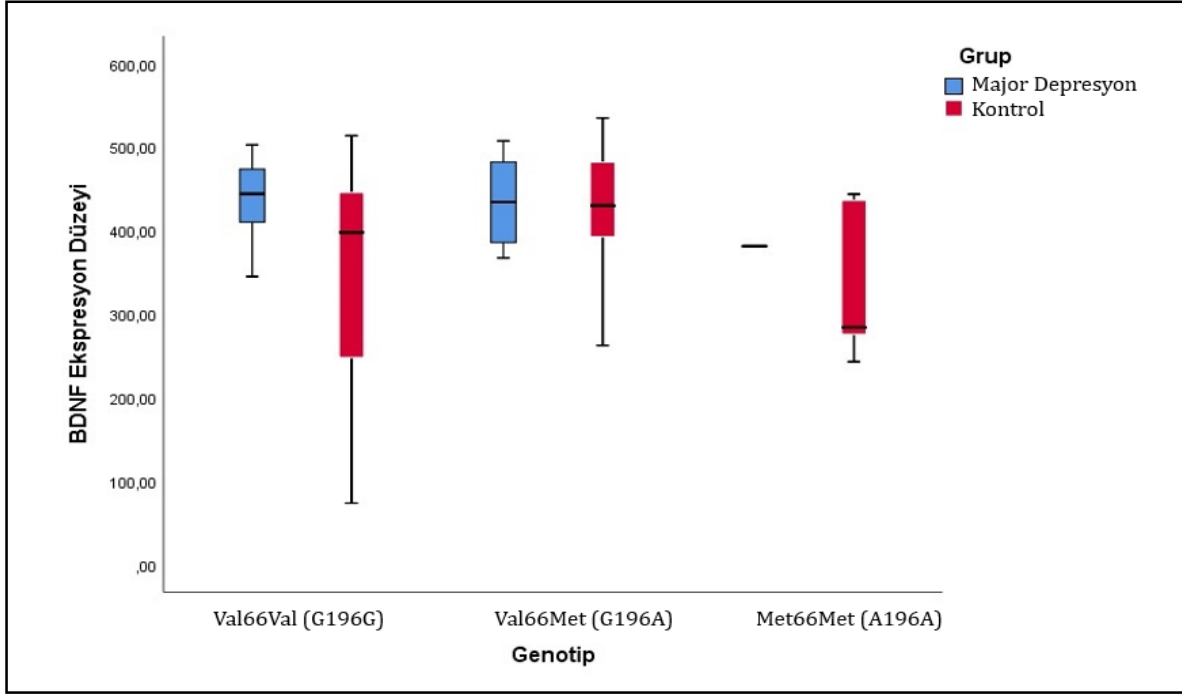
MD: Major depresyon, n: birey sayısı, p<0.05 istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir

Genotip grupları arasında BDNF ekspresyon düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur (p=0.111) (Veri gösterilmemiştir). Hem MD grubu hem de kontrol grubu için

BDNF'nin polimorfik genotipleri arasında ekspresyon düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur (sırasıyla p=0.322 ve p=0.094) (Tablo 3) (Şekil 1).

Tablo 3. MD grubu ve kontrol grubu için BDNF'nin genotip polimorfizmleri arasındaki BDNF ekspresyon düzeyleri

Genotip	MD Medyan[25P-75P]	Kontrol Medyan[25P-75P]
GG	444.15 [405.49-476.01]	397.84 [245.47-446.21]
GA	434.27 [385.55-484.83]	430.07 [392.01-482.81]
AA	381.38 [381.38-381.38]	284.19 [259.54-439.96]



Şekil 1. MD ve kontrol grubunda, *BDNF* (rs6265) genotip polimorfizmleri ile BDNF ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

Tartışma

“Nörotrofin hipotezi”ne göre Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) depresyonda önemli bir aday genidir. Bu hipotez, olgun BDNF'nin rolüne odaklanarak orijinal depresyon teorilerinden birini, yani depresyonun "monoaminerjik teorisini" geliştirir ve CREB-BDNF-TrkB yolunun azalmış aktivitesinin depresif bir duruma neden olduğunu varsayar.⁸ BDNF, keşfedildiğinden bu yana 35 yıllık bir araştırmayı kapsayan bir literatür ortaya çıkarmıştır. Tüm nörotrofinler, sekans homolojisi ve bunların işlenmesinde önemli ölçüde örtüşürken, beyin homeostazı, sağlık ve hastalığıdaki geniş rolleri nedeniyle BDNF en çok çalışılan nörotrofin haline gelmiştir. BDNF üzerine yapılan araştırmalar binlerce makale üretmiş olsa da, BDNF moleküler biyolojisi ve sinyalleşmenin yönleri hakkında çok sayıda uzun süredir devam eden sorular bulunmaktadır.⁹ *BDNF*'nin gen ekspresyonu, beyinde ve insan lenfositleri ve monositleri dâhil olmak üzere diğer sinir dışı dokularda da rapor edilmiştir. Periferik olarak, *BDNF* kan ve tükürük örneklerinde tanımlanabilmektedir.¹⁰ Daha önceki BDNF, NT-3 ve NT-4 nörotrofinlerin ekspresyonel seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelediğimiz

bir hasta-kontrol çalışmamızda MD'li hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla, lökositlerdeki *BDNF* gen ekspresyonunun arttığı ve farmakolojik tedavi sırasında da değişmediği bulgusu rapor edilmiştir.¹¹ Buradan yola çıkarak çalışmamız *BDNF*'nin rs6265 polimorfizminde genotip ekspresyonları ile MD hastalığı arasında ilişki olabileceği hipotezi üzerine kurgulandı.

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), genomda belirli bir konuma sahip tek bir nükleotiddeki mutasyonlardır.¹² SNP'ler, proteinin amino asit dizisini değiştirebilir veya gen ekspresyonunu etkileyebilir. *BDNF*'nin gen sekansında birçok SNP bulunmuştur. Bu SNP'ler arasında Val66Met olarak da adlandırılan rs6265, *BDNF* geninde 196. pozisyonda G alelini A'ya değiştirir. G aleli Valin (Val) aminoasidini kodlarken, A aleli Metiyonin (Met)'i kodlar. Değişim, nöronlarda BDNF üretimini ve salgılanmasını azaltan BDNF mRNA'sının normal translasyonunu ve hücre içi trafiğini etkiler.¹² Valine66Methionine (Val66Met) SNP (rs6265), *BDNF* geni içinde en çok araştırılan varyanttır. *In vitro* analizler, varyant BDNF Met proteininin, salgı yolu tarafından BDNF Val proteinine

göre daha az etkili bir şekilde hedeflendiğini göstermiştir, bu da onun azalmış olarak salgılanması anlamına gelir. İnsanlarda rs6265 Met aleli, hipokampal hacimde azalma, bilişsel performansta azalma ve duygudurum bozuklukları ve anksiyete gibi psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir, ancak bu ilişkilerin hiçbiri tutarlı bir şekilde tekrarlanmamıştır.¹³

Amacı, biyolojik etkileri olan veya hastalıklara neden olan yaygın ve nadir varyantların keşfedilmesini ve yorumlanmasını kolaylaştırmak için 1 milyondan fazla dbGaP deneğinden frekans verilerini gelecekteki sürümlerde açık erişim haline getirmek olan ALFA projesi¹⁴ (sürüm: 20201027095038), dbGaP'den toplam alel frekansının yayınladığı rs6265 SNP'sine ait 1000 genom projesinde 5008 kişinin dâhil edildiği verilere göre C aleli 0.7987, T aleli ise 0.2013 olarak rapor edilmiştir. Aynı projede 1006 kişinin olduğu Avrupa frekansları ise C aleli için 0.8032 T aleli için ise 0.1968'dir.¹⁵ Çalışmamızın verileri mevcut literatürü desteklemektedir (Tablo 2). rs6265 Met alel taşıyıcıları olan bireylerde artmış bir depresyon riski ve şiddeti yaygın olduğu belirtilmektedir.⁴ Met alelinin (T aleli) , BDNF'nin hücre içi dağılımını etkileyerek aktiviteye bağlı sekresyonunu ve BDNF'nin hücre içi dağılımını azalttığı bildirilmiştir.¹² rs6265 ile ilişkili DNA metilasyonunun muhtemelen BDNF sinyallemede fonksiyon kaybına neden olduğu düşünülmektedir.⁴ Bu nedenle alel sıklıklarının bilinmesi BDNF'nin hücre içi dağılımı konusunda da fikir sahibi olmayı kolaylaştıracaktır. BDNF'nin biyosentetik yoldan dağıtımı, karmaşık ve yüksek düzeyde düzenlenmiş görünmektedir; ancak, ayrıntılı süreç belirsizliğini korumaktadır. BDNF nöronlar tarafından salgılandıktan sonra hızla olgun forma dönüşen 32-kDa pro-BDNF olarak salgılanır.¹² Pro-BDNF, salgı veziküllerinin postsinaptik dendritlerden somatodendritik bölmeye taşındığı vezikül aracılı süreçler tarafından salgılanır. 5' pro-BDNF sekansında bulunan rs6265, BDNF'nin salgı granüllerine geçişini bloke eder ancak olgun proteinin işlevini etkilemez. Kemirgen hipokampal nöronlarının val- veya met-BDNF ile transfeksiyonu, val-BDNF salgı granüllerinin

sinapslara yayıldığını, oysa met-BDNF kümelerinin hücre gövdesinde biriktiğini göstermiştir. Bu durum ise, BDNF tarafından yerel ve sinapsa özgü düzenlemeyi engelleyerek hipokampal nöronların ve beynin diğer bölümlerindeki nöronların işlevinin bozulmasına yol açabileceği savunulmaktadır.¹² İlginç bir şekilde, geniş bir meta-analizde, Met aleli erkeklerde depresyon riskini önemli ölçüde artırırken kadınlarda artırmadığı vurgulanmıştır. Muhtemel bir açıklama olarak ise, toplam beyin boyutuna göre uyarlandığında hipokampusun kadınlarda erkeklerden daha büyük olması, kadınların hipokampusunun nörokimyasal yapıda önemli ölçüde farklılık göstermesi ve stresli durumlara karşı tepkisellik oluşturması rolü öne sürülmüştür. Hayvan modellerinde de kronik stresin erkeklerde hipokampusta hasara neden olduğu kadınlarda ise çok daha az hasara neden olduğu ifade edilmektedir.¹⁰ Met alelinin (T aleli) BDNF dağılımı arasındaki ilişki ile irdelendiğinde çalışma grubumuzda erkek hastalarda A aleline yüzdesel olarak kadın hastalara göre daha sık rastlanmış olmamız literatürdeki bu meta-analiz sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca, başka bir çalışmada anksiyete/depresyonu olan heterozigot (Val/Met) yaşlı kadınlarda, homozigot (Val/Val) olanlara kıyasla artmış bir BDNF gen metilasyonu rapor edilmiştir, bu da Met alel ekspresyonunun yine cinsiyete özgü sonuçların olabileceğini düşündürmektedir.⁴ Birkaç çalışma, rs6265'in panik bozukluğu olan hastalar ve ayrıca esrar kullanıcılarında psikozun başlama yaşı dâhil olmak üzere çeşitli psikiyatrik bozukluklarla cinsiyet bağlantısını bildirmiştir.³ Erkeklerde taşıyıcılık durumunun majör depresif bozuklukla da ilişkili olduğu iddia edilmiş olsa da, tekrarlayıcı çalışmalar cinsiyete özgü bir ilişki göstermemiştir.³ Çalışmamızda da cinsiyetler arasında fark bulunamamıştır (veri gösterilmemiştir).

Anksiyete ve depresif bozuklukların çoğu, kadınlarda erkeklere göre iki kat daha sık görülür ve yaygınlıktaki cinsiyet farkı tipik olarak ergenlik döneminde ortaya çıkar.¹⁶ Adet döngüsü boyunca ve doğum sonrası ve menopoz öncesi dönemlerdeki hormonal değişiklikler, artan anksiyete ve

depresyon belirtileri riski ile ilişkilidir.¹⁶ İnsanlarda ve hayvanlarda, azalmış BDNF, afektif patolojinin artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir.¹⁶ İnsanlarda BDNF biyoyararlanımını azaltan *BDNF* geninde (BDNF Val66Met) tek nükleotid polimorfizmi (SNP) çeşitli nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir.¹⁶ Çalışmamızda erkek ve kadın hastalar arasında istatistiksel olarak fark görülmemesine rağmen kadın MD hastaları oransal olarak erkek MD hastalarından daha fazladır (veri gösterilmemiştir). Yine yaptığımız analizlerde cinsiyet ile genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0.553$). Erkek ve kadınlara ayrı ayrı bakıldığında genotip ile cinsiyet ve alel frekansı ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki de gözlenmemiştir (Tablo 1).

BDNF'nin genetik varyasyonları, ağırlıklı olarak işlevsel Val66Met (rs6265) polimorfizmi, depresyon ve antidepresan tedavideki rolleri açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve nöroplastisite, bilişsel ve duygusal işlev ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, etkileri araştırılan popülasyona bağlı gibi görünse de, tartışmalı veriler nedeniyle afektif bozukluklardaki rolleri sorgulanmıştır.¹⁷ Farmakogenetik çalışmalar ile muhtemelen küresel popülasyonlar arasındaki önemli BDNF aleli ve haplotip çeşitliliği nedeniyle, özellikle Asya popülasyonlarında heterozigot genotipte daha iyi yanıt olduğunu bildirilmiştir.¹³ Bu sonucun, BDNF'nin antidepresan bir etki göstermesine rağmen, BDNF aşırı ekspresyonunun amigdala stres kaynaklı plastisiteyi artırabileceğini ve kaygı benzeri davranışları artırabileceğini gösteren hayvan modelleri ile açıklanabileceği varsayılmaktadır.¹³ Hennings ve ark (2019)¹⁷ yaptıkları çalışma sonucuna göre, daha önce antidepresan yanıtla ilişkili olarak gösterilen iki BDNF SNP rs2049046 ve rs11030094'ün, majör depresyonda hipotalamus-hipofiz-adrenokortikal (HPA) eksenini düzenlemesi üzerinde bir etkiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir.¹⁷ Öte yandan çalışmalarında SNP rs6265'in ne antidepresan yanıtı ne de HPA eksenini ile ilişkili olmadığını ifade etmişlerdir.¹⁷

Birçok çalışma, düşük BDNF seviyeleri ile altta yatan MD patofizyolojisi arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.⁴ Depresif hastalardaki meta-analiz, BDNF'nin serum düzeylerinin, depresif olmayan kontrol bireylerindeki kadar düşük olduğunu göstermiştir.⁴ Ek olarak, 65 yaş ve üstü Fransız popülasyonunda, ileri yaş depresyonu olanlarda da *BDNF* gen metilasyonunun artmış olduğu, bu durumun da *BDNF* gen transkripsiyonunda azalmaya yol açtığı şeklinde ifade edilmiştir. Bu veriler, MD'li hastaların hem serumunda hem de hipokampusunda BDNF düzeylerinin düşük olduğunu öne süren diğer bulgularla ilişkilidir.⁴ Parkinson hastalığında (PD), bazı hastalarda depresif bozukluk eşlik eden bir durumdur. Benzer şekilde, depresyonu olan PD hastalarından alınan serumda, depresyonu olmayanlara kıyasla daha düşük BDNF düzeyi gözlenmiştir. Bu sonuçlar, depresyonlu hastalardan alınan ölüm sonrası örnekler üzerinde yapılan araştırmalarla desteklenmiştir. BDNF'nin aşağı regülasyonu, anterior singulat korteks, kaudal beyin sapı, ventral prefrontal korteks ve hipokampus dahil olmak üzere çeşitli beyin bölgelerinde tanımlanmıştır.¹⁸ Shimizu ve ark (2003)¹⁹ yaptıkları bir çalışmada ise antidepresan kullanmamış depresyonlu hastalarda serum BDNF düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Tüm bu çalışmalar doğrultusunda BDNF ekspresyonu ile MD arasındaki ilişki çok açık olmasına ve lökositlerdeki *BDNF* gen ekspresyonunun arttığını gözlemlemiş olmamıza rağmen rs6265 polimorfizmi ile BDNF ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemedik (Tablo 3). Daha büyük hasta grubuyla çalışılması durumunda, istatistiksel olarak anlamlı MD ile kontrol arasındaki medyan değerler farkının önemli bir veri seti oluşturacağını düşünmekteyiz.

Sonuç

Sonuç olarak, BDNF varyantlarının daha derinlemesine analizleri, gelecekte farmasötik müdahale ve majör depresyonun hassas tıbbi için olası yeni hedeflere işaret edebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca

kişiselleştirilmiş tıp çağında, klinik müdahalelerin etkinliğini etkileyebilecek hem küresel (örn. yaşlanma) hem de spesifik (örn. rs6265 SNP) faktörlerin anlaşılması tıp alanında önemli ilerlemeler sağlayabilir.

Yazar Katkıları: Tasarım ve Planlama: ÜK, MEA, Verilerin Toplanması: AZ, ANİK, ÜK, Moleküler Genetik Çalışmaların Yapılması: ÜK, MEA, KÇ, GD, Verilerin Değerlendirilmesi: AZ, ANİK, ÜK, İstatistiksel Analiz: DDY, Süpervizyon ve Eleştirel İnceleme: MEE.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Mali Destek: Çalışmanın yapılması ve makalenin yazımı süresince mali ve maddi destek sağlayan kişi ve/veya kurum yoktur.

Teşekkür: Çalışmanın her aşamasında danışmanlık desteği veren danışman hocam Prof Dr. Özlem İZCİ AY'a, çalışma gruplarının oluşturulmasındaki destekleri için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda emeği geçenlere, çalışmamıza gönüllü olarak katılan hasta ve kontrol grubu bireyelerine, çalışma arkadaşım Damla YÜKSEL BALIM'a teşekkür ederim.

Kaynaklar

1. Li W, Ali T, Zheng C, et al. Anti-depressive-like behaviors of APN KO mice involve Trkb/BDNF signaling related neuroinflammatory changes. *Mol Psychiatry*. 2022;27(2):1047-1058. doi:https://doi.org/10.1038/s41380-021-01327-3
2. Li XL, Liu H, Liu SH, Cheng Y, Xie GJ. Intranasal Administration of Brain-Derived Neurotrophic Factor Rescues Depressive-Like Phenotypes in Chronic Unpredictable Mild Stress Mice. *Neuropsychiatr Dis Treat*. Published online 2022:1885-1894.
3. Nguyen VT, Hill B, Sims N, et al. Brain-derived neurotrophic factor rs6265 (Val66Met) single nucleotide polymorphism as a master modifier of human pathophysiology. *Neural Regen Res*. 2023;18(1):102-106. doi:doi:10.4103/1673-5374.343894
4. Szarowicz CA, Steece-Collier K, Caulfield ME. New Frontiers in Neurodegeneration and Regeneration Associated with Brain-Derived Neurotrophic Factor and the rs6265 Single Nucleotide Polymorphism. *Int J Mol Sci*. 2022;23(14):8011.
5. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215. doi:doi:10.1093/nar/16.3.1215
6. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162(1):156-159.
7. Gene. National Library of Medicine. Accessed January 25, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NM_001143805.1
8. Chourbaji S, Brandwein C, Gass P. Altering BDNF expression by genetics and/or environment: impact for emotional and depression-like behaviour in laboratory mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011;35(3):599-611.
9. Notaras M, van den Buuse M. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF): novel insights into regulation and genetic variation. *The Neuroscientist*. 2019;25(5):434-454. doi:https://doi.org/10.1177/1073858418810142
10. Arosio B, Guerini FR, Voshaar RCO, Aprahamian I. Blood brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and major depression: do we have a translational perspective? *Front Behav Neurosci*. 2021;15:626906.
11. Balim DY, Ay Öİ, Ay ME, Karakaş Ü, Kenar Aİ, Erdal ME. Beyin kökenli nörotrofik faktör, nörotrofin-3 ve nörotrofin-4 gen ekspresyon değişimleri majör depresyonun patogeneğinde etkili midir? *Anadolu Psikiyatri Derg*. 2019;20(6):581-589.
12. Bao MH, Zhu SZ, Gao XZ, Sun HS, Feng ZP. Meta-analysis on the association

- between brain-derived neurotrophic factor polymorphism rs6265 and ischemic stroke, poststroke depression. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018;27(6):1599-1608.
13. Corponi F, Fabbri C, Serretti A. Pharmacogenetics in psychiatry. *Adv Pharmacol.* 2018;83:297-331.
 14. Phan L, Jin Y, Zhang H, et al. ALFA: Allele Frequency Aggregator (National Center for Biotechnology Information, US National Library of Medicine). *Google Sch.* Published online 2020.
 15. The National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine, The National Center for Biotechnology Information dbSNP. Accessed January 23, 2023. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs6265#frequency_tab
 16. Bath KG, Chuang J, Spencer-Segal JL, et al. Variant BDNF (Val66Met) polymorphism contributes to developmental and estrous-stage-specific expression of anxiety-like behavior in female mice. *Biol Psychiatry.* 2012;72(6):499.
 17. Hennings JM, Kohli MA, Uhr M, Holsboer F, Ising M, Lucae S. Polymorphisms in the BDNF and BDNFOS genes are associated with hypothalamus-pituitary axis regulation in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2019;95:109686.
 18. Zhang E, Liao P. Brain-derived neurotrophic factor and post-stroke depression. *J Neurosci Res.* 2020;98(3):537-548.
 19. Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry.* 2003;54(1):70-75.