

**Araştırma / Original article****Beyin kökenli nörotrofik faktör, nörotrofin-3 ve nörotrofin-4 gen ekspresyon değişimleri majör depresyonun patogenezinde etkili midir?\*****Damla YÜKSEL BALIM,<sup>1</sup> Özlem İZCİ AY,<sup>2</sup> Mustafa Ertan AY,<sup>3</sup> Ümit KARAKAŞ,<sup>4</sup> Ayşenur İNCİ KENAR,<sup>5</sup> Mehmet Emin ERDAL<sup>6</sup>****ÖZ**

**Amaç:** Beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4 (NT-4); nöronal sağlıklı kalımın, farklılaşmanın, büyümenin ve nöronal plastisitenin düzenlenmesinde önemli rolleri olan nörotrofinlerdir. Nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisi ile nörotrofik faktörlerin ifade düzeyleri arasındaki ilişki bilinmekle birlikte, majör depresyon (MD) patogenezi ve nörotrofinler arasındaki ilişki henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, kan hücrelerindeki BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyonları ile MD arasındaki ilişkiyi araştırdık. **Yöntem:** Bu olgu-kontrol çalışmasında, DSM-5 ölçütlerine göre MD'li 51 hasta ve 75 sağlıklı kontrole ait kanlardan total RNA elde edildi. Kantitatif Real-Time PCR yöntemi ile saptanan, MD ve kontrol gruplarındaki BDNF, NT-3, NT-4 genlerine ait ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı. **Bulgular:** Çalışma sonucunda, MD hastalarının BDNF gen ekspresyon düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu; NT-3 ve NT-4 değerleri bakımından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi. Aile öyküsü olan MD hastalarının BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon düzeylerinde farklılık saptanmadı. Hasta grubu içinde cinsiyetler arasında ve antidepresan kullanım sürelerine göre, BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. **Tartışma:** MD hastalarının kan hücrelerindeki BDNF geni ekspresyon düzeyi değişiklikleri, sadece MD'nin patogenezinin anlamada değil, tedavinin izlenmesinde de, BDNF'nin perifer ile beyin arasındaki çift yönlü hareketi ve serum BDNF düzeyini değiştirme etkisinden dolayı göz önünde bulundurulmalıdır. (*Anadolu Psikiyatri Derg* 2019; 20(6):581-588)

**Anahtar sözcükler:** Majör depresyon, nörotrofin, BDNF, NT-3, NT-4

**Are brain derived neurotrophic factor, neurotrophin-3 and neurotrophin-4 gene expression changes effective in the pathogenesis of major depression?****ABSTRACT**

**Objective:** Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrophin-3 (NT-3) and neurotrophin-4 (NT-4) are neurotrophins and they are critical regulators of the survival, differentiation, growth and plasticity of neuronal networks. There is plenty of evidence suggesting the involvement of altered levels of expression of neurotrophic factors in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders. However, the relationship between neurotrophins and major depression (MD) remains unclear. In this study, we assessed the relationship between the BDNF, NT-3, NT-4 gene expression levels in blood cells and MD. **Methods:** In a case-control study, total RNA was obtained from blood cells,

\* Bu çalışma Mersin Üniversitesi BAP Birimi tarafından (2016-2-TP2-1808) desteklenmiştir.

<sup>1</sup> MSc, <sup>2</sup> Doç. Dr., <sup>3</sup> Dr. Öğr. Üyesi, <sup>4</sup> PhD, <sup>6</sup> Prof. Dr., Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Mersin

<sup>5</sup> Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri ABD, Denizli

**Yazışma adresi / Correspondence address:**

Doç. Dr. Özlem İZCİ AY, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Yenişehir/Mersin

E-posta: ozlemay@mersin.edu.tr

Geliş tarihi: 14.03.2019, Kabul tarihi: 12.04.2019, doi: 10.5455/apd.37092

Anadolu Psikiyatri Derg 2019; 20(6):581-588

51 MD patients (diagnosed according to the DSM-5 criteria) and 75 healthy controls. Detected with quantitative Real Time PCR, expression levels of BDNF, NT-3, NT-4 genes were compared between the groups. **Results:** In this study, BDNF expression levels of the patients with MD were significantly higher than the control group but no statistically significant difference between NT-3 and NT-4 expression levels. There was no differences in expression levels of BDNF, NT-3 and NT-4 genes in MD patients with family history. There was no statistically significant difference in the BDNF, NTF-3 and NTF-4 expression levels among the sex groups for the patient group and no statistically significant difference between MD patients according to antidepressant usage time. **Discussion:** Not only in understanding the pathogenesis of MD but also in the follow-up of treatment, expression level changes of BDNF gene in blood cells of MD patients must be considered because of the bidirectional movement of BDNF between the periphery and the brain and effect of changing serum BDNF levels. (*Anatolian Journal of Psychiatry* 2019; 20(6):581-588)

**Keywords:** major depression, neurotrophin, BDNF, NT-3, NT-4

## GİRİŞ

Majör depresyon (MD) değersizlik, güçsüzlük, bıkkınlık gibi duygu ve düşüncelerin yanı sıra, konuşma ve hareketlerde yavaşlama, sosyal yaşamda bireyler arası sorunlar yaşama gibi belirtilerle ortaya çıkan bir duygudurum bozukluğudur.<sup>1</sup> Dünya nüfusunun yaklaşık %21'ini etkileyen MD'nin yaşam boyu yaygınlığı kadınlar için %10-25, erkekler için %5-12 arasındadır.<sup>2</sup> Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 1990 yılında MD'nin tüm dünyada dördüncü hastalık yükü nedeni olduğunu, 2020 yılında stres ve kardiyovasküler sistem hastalıkları ile ilgili komplikasyonlar nedeniyle ölüme yol açan hastalıkların ardından ikinci sırada yer alacağını, 2030 yılında ise dünya genelinde en yaygın görülen hastalık olacağını öngörmüştür.<sup>3</sup>

MD'nin etiolojisinde ruhsal-toplumsal/davranışsal, genetik ve biyolojik etkenler önemlidir. Ruhsal-toplumsal etkenler arasında yer alan yaşamsal olaylar ve çevresel stres (anne, baba veya eş kaybı gibi travmatik ruhsal olaylar), vücutta uzun süreli veya kalıcı nöron kaybı, nörotransmitter düzeyinde değişiklikler, reseptör sayısı ve duyarlılığında farklılıklar, sinaptik değişiklikler yoluyla MD'ye neden olabilmektedir. Bağımlı, obsesif kompulsif kişilik özellikleri de MD'ye yatkınlığa neden olabilir. Kişide hüznün, sitem, ağlama, uykusuzluk, durgunluk gibi psikodinamiği değiştiren durumlar da MD nedeni olarak gösterilmiştir.<sup>4</sup> Genetik etkenler ise MD hastalarının yaklaşık %40'ında görülmektedir. Bir uçlu depresyon hastalarının birinci derece yakınlarında hastalanma riski oranı %11-18, kontrol grubunun birinci derece akrabalarında hastalanma riski oranı %0.7-7 arasında belirlenmiştir.<sup>5</sup>

Nörotrofinlerdeki değişimler MD'nin biyolojik nedenleri arasındadır. Nörotrofinler nöronların gelişimi ve korunması, sinapsların stabilizasyonu, sinaptik iletişim, akson/dentrit dallanmalarının düzenlenmesi, nörotransmitter salınımı ve

sinaptik plastisite gibi nörobiyolojik süreçlerde önemli rolleri olan biyomoleküllerdir.<sup>6</sup> Neto ve arkadaşları, özellikle hipokampüste, nörotrofinler tarafından düzenlenen nörogenezin antidepresif düzeneklerle ilişkili olduğunu göstermişlerdir.<sup>7</sup> Bunlardan en çok bilinenler, beyin kökenli nörotrofik faktör (brain derived neurotrophic factor-BDNF) ve BDNF ile yüksek sekans homolojisi gösteren nörotrofin-3 (neuro-trophin-3; NT-3) ve nörotrofin-4'tür (neuro-trophin-4, NT-4).

Nörogenezde önemli işlevlere sahip olan BDNF'nin MD patofizyolojisindeki rolü rodentlerde yapılan çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmada, rodent hipokampusunda BDNF mRNA ekspresyonu azalmasının öngörülemez hafif strese, toplumsal izolasyona ve toplumsal yenilgiye neden olduğu, ancak dentat girusa BDNF injeksiyonu ile depresyon belirtilerinin ortadan kalktığı belirlenmiştir.<sup>8</sup> Matrisciano ve arkadaşları ise farklı antidepresanların BDNF düzeylerini farklı düzeneklerle değiştirdiğini bildirdi.<sup>9</sup> Birçok araştırma, serum BDNF düzeyinin, depresif kişilerde normal kişilere göre düşük olduğunu, ancak antidepresan tedavi sonrası ciddi şekilde arttığını ve MD'nin tedaviye yanıtını belirleyen bir belirteç olarak kullanılabileceğini önermiştir.<sup>10,11</sup> Bununla birlikte, Molendijk ve arkadaşları, yaptıkları meta-analizde serum BDNF düzeyi ile MD arasında bilinenin aksine zayıf bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir.<sup>12</sup>

BDNF ile %60-69 sekans homolojisi gösteren NT-3, nörotransmitter plastisitede ve sempatik nöronların farklılaşmasında görev alır. NT-3 homoloğu NT-4 ise hipokampustaki prekürsör nöronların farklılaşmasında ve yetişkin duysal nöronların sağlıklı kalımında görev yapmaktadır. NT-4'ün, spinal gangliyon nöronların sağlıklı kalımı üzerindeki etkisi BDNF ile eşit düzeyde ve NT-3'ten daha güçlüdür. İki nörotrofinin de BDNF gibi değişik düzeylerdeki depresyonla ilişkili olduğu belirtilmiştir.<sup>13,14</sup>

BDNF insanda başta beyin, akciğer ve kalp; NT-

3 over, dalak, karaciğer; NT-4 deri, prostat ve akciğer olmak üzere birçok organda hücreler tarafından eksprese edilmektedir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>). Her üç genin kan hücrelerindeki ekspresyonlarına yönelik yeterli veri yoktur. Lommatzsch ve arkadaşları dolaşımdaki trombositlerin serum BDNF deposu olduğunu göstermiştir.<sup>15</sup> Beyaz kan hücrelerinin BDNF eksprese ettiği ise, Pandey ve arkadaşları tarafından saptanmıştır.<sup>16</sup>

Serum BDNF düzeyi MD hastalarında tedaviye yanıt belirteci olarak kullanılmakla birlikte, serumdaki BDNF'nin kökeni ve beyaz kan hücrelerinden eksprese edilen BDNF'nin MD patofizyolojisine katkısı henüz tam olarak bilinmemektedir. MD hastalarında BDNF homoloğu olan NT-3 ve NT-4 genlerinin ekspresyonlarının araştırıldığı çalışma sayısı da azdır. Bu çalışmada, MD'li erişkin hastalarda ve sağlıklı gönüllü bireylerde kan hücrelerindeki BDNF, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyon düzey farklılıkları ve hastalarda saptanan ekspresyon düzeylerinin antidepresan kullanım sürelerine ve önceden kullanılan antidepresan sürelerine göre değişimleri araştırıldı.

## YÖNTEM

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda MD'li hastalar ve sağlıklı kontrollerle yapıldı. Çalışmaya ait moleküler analizler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'de yapıldı. Etik onayı Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (14.04.2016, 7/105) alındı.

### Hasta ve kontrol grubu

Çalışmaya, Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği (HDDÖ) (the Hamilton Depression Rating Scale) puanı en az 16 olan ( $18.04 \pm 2.95$ ) ve Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı-5 (DSM-5) (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition) ölçütlerine göre MD'li, en fazla iki yıldan beri klinik olarak izlenen, 18-65 yaş aralığında ( $41.55 \pm 13.45$ ) 51 MD hastası alındı. Hastaların 39'u kadın (%76), 12'si erkekti (%24). Diğer psikiyatrik bozukluğu olanlar (anksiyete, obsesif kompulsif bozukluk, travma sonrası stres bozukluğu, bunama, şizofreni veya diğer psikotik bozukluklar, bipolar) ile sistemik hastalığı olanlar BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeylerini değiştirebileceğinden dolayı dışlandılar. Kontrol grubu olarak, ailesinde de bir nöropsikiyatrik hastalık öyküsü olmayan, yaş ve cinsiyet bakımından hasta grubuyla eşleşecek şekilde toplam 75 sağlıklı birey (Ort. yaş:  $38.51 \pm 12.17$ ) seçildi. Kontrol grubunda kadın sayısı 49 (%65.5), erkek sayısı 26 (%34.5) idi. Hasta ve kontrol gruplarının sosyodemografik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. İki gruba da çalışmaya kabul ettiklerine ilişkin bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

### BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi

Hasta ve kontrol gruplarından RNA elde edilmesi, 500 µl EDTA'lı periferik kandan, klasik single-step acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction yöntemi ile gerçekleştirildi.

Elde edilen RNA'ların saflık ve kalitesi the CapitalBio NanoQ™ (China) ile spektrofotometrik olarak belirlendikten sonra uygun olan örnekler-

**Tablo 1.** Majör depresyon ve kontrol gruplarının sosyodemografik özellikleri

	Majör depresyon		Kontrol	
	Sayı	%	Sayı	%
Eğitim düzeyi				
Okuryazar değil	1	1.96	3	4.0
Okuryazar	2	3.92	4	5.3
İlköğretim	22	43.13	8	10.6
Lise	19	37.25	31	41.3
Lisans	7	13.72	23	30.6
Lisansüstü	0	0	5	6.7
Medeni durumu				
Evli	40	78.44	61	77.05
Bekar	11	21.56	14	22.95
Yaşadığı yer				
Kent	38	74.50	51	68.0
Kırsal	13	25.50	24	32.0
Toplam	51	100.00	75	100.0

den cDNA sentezlendi. Tüm cDNA'lar 2µg/µl RNA kalıptan, MMV-RT (200U/µl) (Thermo Scientific) ve poly T oligonükleotid primer (5 µl) kullanılarak, reaksiyon tüplerinin Thermal Cyclers (Veriti, Applied Biosystems, ABD) cihazında 37°C'de 60 dk, 95°C'de 5 dk bekletilmesiyle sentezlendi.

Sentezlenen cDNA'lardan BDNF, NT-3, NT-4 genine özgü primer-problar kullanılarak gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi kantitatif Real-Time PCR (qPCR) yöntemi ile gerçekleştirildi. Her gene özgü primer-prob dizileri; www.ncbi.nlm.nih.gov/gene veri tabanında bulunan BDNF, NT-3, NT-4 gen dizileri kullanılarak Primer Express 3.0 (Applied Biosystems) programı ile tasarlandı. Dizisini belirlediğimiz primer ve problar Metabion International AG (D-82152 Martinsried/Deutschland) tarafından sentezlendi. BDNF, NT-3, NT-4 genlerine özgü primer-

prob dizileri Tablo 2'de verilmiştir. BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeyleri Real-Time PCR cihazı (ABI Prism 7500, Applied Biosystems, Foster City, CA) kullanılarak Comparative C<sub>T</sub> (ΔΔC<sub>T</sub>) yöntemi ile saptandı. Reaksiyon karışımı 12.5 µl, 2X TaqMan Master Mix (Applied Biosystems), 900 nmol her bir primer, 200 nmol FAM işaretli MGB prob ve 5 µl cDNA (30 ng) olacak şekilde hazırlandı. BDNF, NT-3 ve NT-4 için qPCR koşulları ön inkübasyon için 60°C'de 1 dakika (1 döngü), aktivasyon için 95°C'de 10 dakika (1 döngü), denatürasyon için 95°C'de 15 saniye (40 döngü) ve bağlanma/uzama için 60°C'de 1,30 dakika (40 döngü) olarak uygulandı. Endojen kontrol olarak β-aktin genine ait primer ve prob kullanıldı. Elde edilen ekspresyon eğrileri SDS 2.0.6 Software for 7500 Real Time PCR Product (Applied Biosystems) programı kullanılarak değerlendirildi.

**Tablo 2.** BDNF, NT-3 ve NT-4 Real Time PCR primer ve prob dizileri

Gen	NCBI referans dizisi*	Primer ve prob dizileri
BDNF	NM_001143805.1	5'-F-CAGGCCCGCTCATTCT-3' 5'-R-CATAGGTCCTTCCGTCAAAGC-3' 5'-PR-FAM-TGGGCGTTGGTCAGAGT-ZNA4-BHQ-1-3'
NT-3	NM_001102654.1	5'-F-GAGCTCGCGTCCACCTTTC-3' 5'-R-CATCCGTGTGGCCGTTTC-3' 5'-PR-FAM-TT(pdC)ATGT(pdC)GACGTCCCT-ZNA4-BHQ-1-3'
NT-4	NM_001102654.1	5'-F-GGACAGGAGGCACTGGGTATC-3' 5'-R-TCAATGCCCGCACATAGGA-3' 5'-PR-FAM-AGTG(pdC)AAGGCCAAGCA-ZNA4-BHQ-1-3'

\*: www.ncbi.nlm.nih.gov/gene, (F: Forward, R: Reverse, PR: Prob)

### İstatistiksel değerlendirme

Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadıkları Shapiro Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım varsayımı sağlayan değişkenler ortalaması ± standart sapma (Ort ± SS) cinsinden özetlenirken, varsayımı sağlamayan değişkenler median [P25-P75] (P=Persentil) şeklinde özetlendi. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde cinsinden özetlendi. Grup karşılaştırmalarında normal dağılım şartı sağlanmadığında iki grup için Mann Whitney U testi, ikiden fazla grup için Kruskal Wallis testinden yararlanıldı. p<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Tüm istatistiksel değerlendirmeler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı tarafından yapıldı.

### BULGULAR

Çalışmamıza 88 kadın (%69.84) ve 38 erkek (%30.16) olmak üzere 126 birey alındı. İki gruptaki kadınların yaş ortalaması 39.87±14.01, erkeklerin 39.58±9.53 yıl olarak hesaplandı. MD hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımı arasında istatistiksel yönden anlamlı fark olmadığı saptandı (p>0.05).

BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeylerinde, normallik testine göre BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon değerlerinin normal dağılıma uygun dağılmadığı saptandı (p<0.001, p<0.001, p<0.001). Hasta grubunda BDNF ekspresyon düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p=0.004). NT-3 (p=0.30) ve NT-4 (p=0.53) ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.

**Tablo 3.** MD ve kontrol gruplarında BDNF, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyon değerleri ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )

Gen	Grup	Sayı	Medyan	[P25-P75]	p
BDNF	MD	51	441.30	400.77-476.86	0.004
	Kontrol	75	416.50	263.94-459.53	
NT-3	MD	51	89.70	84.32-93.49	0.30
	Kontrol	75	93.76	43.87-103.81	
NT-4	MD	51	331.28	315.17-356.02	0.53
	Kontrol	75	353.29	40.72-367.89	

(Tablo 3). Aile öyküsüne göre, ailesinde MD hastası olan bireylerde (%21.56) BDNF, NT-3 ve NT-4 genlerine ait ekspresyon düzeyleri bakımından farklılık gözlenmedi (sırasıyla  $p=0.08$ ,  $p=0.33$  ve  $p=0.86$ ) (Veriler gösterilmemiştir).

Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlere göre BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasında, MD grubunda cinsiyetler arasında BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon

düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p=0.76$ ,  $p=0.97$ ,  $p=0.98$ ). Kontrol grubunda ise üç gen için de ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu saptandı ( $p<0.001$ ). Hasta grubundaki erkeklerin kontrol grubundaki erkeklere göre BDNF, NT-4 ve NT-3 gen ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.001$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Cinsiyete göre grupların BDNF, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyon değerleri ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )

Gen	Majör depresyon		p	Kontrol		p
	Kadın (s=39)	Erkek (s=12)		Kadın (s=49)	Erkek (s=26)	
BDNF			0.76			<0.001
Medyan	441.04	449.79		445.29	237.07	
[P25-P75]	400.76-476.85	404.52-478.32		418.23-469.49	61.48-276.58	
NT-3			0.97			<0.001
Medyan	89.730	89.237		100.47	33.07	
[P25-P75]	84.20-93.49	84.61-95.80		93.70-105.74	21.66-44.80	
NT-4			0.98			<0.001
Medyan	334.68	329.25		364.97	30.90	
[P25-P75]	306.30-357.47	316.34-351.47		354.54-376.65	24.04-41.88	

MD hastaları, tek veya kombine olarak TCA, MAO, SSRI, SNRI, NDRI, NaSSA'dan en az birini kullanma koşuluyla, antidepresan kullanım sürelerine göre (0-1, 2-4, 5-7, 9-12, >12 ay) sınıflandırıldığında, BDNF, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyon düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (sırasıyla  $p=0.53$ ,  $p=0.16$ ,  $p=0.68$ ). MD hastaları önceden kullandıkları antidepresan sürelerine göre (0-1, 2-4, 5-7, 9-12, >12 ay) sınıflandırdığımızda, BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon düzeyleri için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırasıyla  $p=0.36$ ,  $p=0.47$ ,  $p=0.45$ ). Çalışmaya alınan antidepresan kullanmamış yeni tanı konan dört MD hastasının BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon düzeylerinin tedavi gören hastalardan farklı

olmadığı görüldü (Veriler gösterilmemiştir).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada MD'li hastaların ve sağlıklı bireylerin periferik kanlarında BDNF, NT-3 ve NT-4 genlerine ait ekspresyon düzeyleri araştırıldı. Araştırma sonucunda, hasta grubunda BDNF mRNA ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre artmış olduğu, ancak NT-3 ve NT-4 mRNA ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı ve ayrıca BDNF, NT-3 ve NT-4 ekspresyon düzeylerinin aile öyküsünde MD'li birey olma durumunda değişmediği gösterildi. Yanı sıra, BDNF, NT-3, NT-4 gen ekspresyon düzeylerinin cinsiyetlere ve antidepresan kullanım süresine göre değişim göstermediği saptandı. Hasta gru-

bundaki erkeklerin BDNF, NT-4 ve NT-3 gen ekspresyon düzeylerinin kontrol grubundaki erkeklerden daha yüksek olduğu belirlendi.

MD, kadınlarda erkeklere göre daha sık gözlenen bir hastalıktır. Hasta grubumuzun %76'sını kadınların oluşturması literatür ile uyumludur. Amerikan Ulusal Ruh Sağlığı Enstitüsü'nün (National Institute of Mental Health) Epidemiyolojik Alan Araştırmasına (Epidemiologic Catchment Area) göre MD başlangıç yaşı 27, hastaların tedavi için hastaneye başvurma yaşı 40'lı yaşlar olarak belirtilmiştir.<sup>17</sup> Hasta grubumuzun yaş ortalaması 41.55 olup ECA ile benzerdir.

Nörotrofik faktörler ile MD arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar, hastaların serum BDNF düzeylerine ve tedavi sürecindeki değişimlerine odaklanmış olup literatürde bu konuda çelişkili sonuçlar vardır. Shimizu ve arkadaşları, Sen ve arkadaşları, Huang ve arkadaşları, Colle ve arkadaşları, Aldoghachi ve arkadaşları MD hastalarının serum BDNF düzeylerinin önemli ölçüde düşük olduğunu, uygulanan antidepresan tedavi sonrası serum BDNF düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca kadın MD hastalarındaki serum BDNF düzeyinin erkeklere göre daha yüksek olduğu da vurgulanmıştır.<sup>10,18-21</sup> Bunun aksine Ziegenhorn ve arkadaşları, cinsiyetin serum BDNF düzeyine etkisinin olmadığını, ancak yaş ile BDNF düzeyi arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir.<sup>22</sup> Antidepresan tedavinin serum BDNF düzeylerine etkisinde de farklı sonuçlar bulunmuştur. Paroksetin ve milnasipram verilen 42 MD hastasında tedavi öncesi serum BDNF düzeyi düşük bulunurken, tedavinin dördüncü haftasında yükseldiği, daha sonraki haftalarda ise değişmediği saptanmıştır.<sup>14</sup> Paccini ve arkadaşları ise, yeni tanı konmuş 15 MD hastasının serum BDNF düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ve antidepresan tedavi sırasında üçer aylık dönemlerde serum BDNF düzeylerinin değişmediğini göstermişlerdir.<sup>23</sup>

BDNF ile MD ilişkisini açığa kavuşturmak için yapılan meta-analizlerde de farklı sonuçlar elde edilmiştir. Brunoni ve arkadaşları ile Sen ve arkadaşları meta-analizlerinde MD ile BDNF düzeyi arasında sıkı bir ilişki olduğunu belirtirken, Molendijk ve arkadaşları bilinenin aksine zayıf bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir.<sup>10,12,24</sup> Bu çelişkili sonuçların MD'nin karmaşık bir bozukluk olması ve çalışılan hasta ve kontrol gruplarındaki farklılıklardan (hasta sayısı, etnik köken, yaş, cinsiyet gibi) kaynaklandığı düşünülebilir. Buna ek olarak, BDNF ve diğer nörotrofik faktörlerin dokuya özgü (özellikle hipotalamustaki) ekspres-

yonel değişimler ile MD patofizyolojisinde etkili olduğu ve serum BDNF düzeylerindeki değişimlerin kan hücrelerinden salınan BDNF ile değişebileceği unutulmamalıdır.

Nörotrofik faktörlerin dokuya özgü ekspresyonlarını araştıran çalışmalar postmortem dokularda genellikle immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak yapılmakta olup az sayıdadır. Sheldrick ve arkadaşları antemortem MD tanısı konmuş ve tedavi görmemiş dört, SSRI ve TCA tedavisi gören üç otopsiye ait kortikal bölge beyin homojenatlarında BDNF protein düzeylerini immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, tedavi görmüş MD hastalarında BDNF ve NT-3 düzeylerinin yüksek, tedavi görmeyen hastaların ise NT-3 düzeyinin ciddi şekilde düşük olduğu ve elde edilen bu verilerin serum BDNF ve NT-3 düzeyleri ile uyumlu olduğu bildirilmiştir.<sup>25</sup> Postmortem dokularda yapılan çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde önemli bir sınırlayıcı etken olan örnek sayılarının azlığı dikkate alınmalıdır.

MD hastalarında BDNF, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyonu düzeyinde yapılan çalışmalar hastalardan beyin dokusu elde edilemediği için periferik kan örneklerinde yapılmaktadır. Literatüre göre BDNF'nin kan beyin bariyerini iki yönlü olarak geçtiği bilinmektedir.<sup>26</sup> Bu nedenle MD hastalarında biyobelirteç adayı olan BDNF'nin (ve diğer nörotrofinlerin) kan hücrelerindeki ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve bu moleküllerin serum düzeylerini nasıl etkilediğinin saptanması hastalık tanısında olduğu kadar, tedavinin izlenmesinde de önemlidir. Pandey ve arkadaşları, MD hastalarının periferik kan lenfositlerinde BDNF ekspresyonunun azaldığını ve depresyon için iyi bir periferik belirteç olabileceğini, olasılıkla beyindeki benzer anormallikleri yansıtabileceğini önermişlerdir.<sup>16</sup> Pandey ve arkadaşları bu araştırmada hastalarının tedavi durumlarını değerlendirmemişlerdir. Pandey'in sonuçları Brunoni tarafından bağışıklık sistemi ile MD arasındaki ilişkiyi düzenleyen yeni bir endofenomen veya epifenomen olarak yorumlanmıştır.<sup>27</sup> 2009 ve 2013 yılında Cattaneo ve arkadaşları MD hastalarının lökositlerinde BDNF ekspresyonunun düşük olduğunu ve tedavinin ardından yükseldiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, MD'de gözlenen serum BDNF modülasyonunun lökositlerdeki BDNF sentezi ile değişebileceğini ve antidepresanların etki mekanizmalarında aktif rol oynayabileceğini önermişlerdir.<sup>28,29</sup>

Çalışmamızda MD hasta grubunda tedavi öncesi BDNF ekspresyon düzeylerini belirlememiş olmamıza rağmen, kontrol grubuna göre BDNF

gen ekspresyonunun yüksek olduğunu ve anti-depresan kullanma sürelerine göre ve önceden kullanılan antidepresan kullanma sürelerine göre değişmediğini bulduk. Gözlemediğimiz yüksek BDNF ekspresyon düzeylerinin hastalarımızın uzun süre görmüş oldukları antidepresan tedavinin sonucu olduğunu düşünmekteyiz. Verilerimiz antidepresan tedavi sonrası BDNF düzeyinin arttığı yönündeki bilgiyi desteklemektedir. Değişik sürelerde antidepresan tedavi gören MD hastaları arasında BDNF ekspresyon düzeyleri arasında fark görmememiz ise, antidepresan etkinin uzun süreli ve değişmez olduğunu göstermekte olup Yashimura ve arkadaşları ile Paccinni ve arkadaşlarının serum BDNF sonuçları ile paralellik göstermektedir.<sup>23,30</sup> Hing ve arkadaşları, monozigot ikizlerin dizigotik ikizlere göre MD için daha yüksek konkordans gösterdiklerini ve MD gelişiminde genetik etkenlerin önemli olduğunu belirtmişlerdir.<sup>31</sup> Çalışmamızda, MD aile öyküsü olan ve olmayan hastalardaki BDNF, NT-3 ve NT-4 genlerine ait ekspresyon düzeyleri arasında farklılık gözlenmedi. Araştırmamızda, ailesinde MD öyküsü olan birey sayısının düşük olması, sonuçlarımızın daha büyük gruplarda doğrulanmasını gerektirmektedir.

BDNF, NT-3 ve NT-4 nörotrofinler, aminoasit dizilimleri açısından birbirlerine çok benzemelerine rağmen, işlevsellik açısından farklı ve özgün moleküllerdir. NT-3 ve NT-4'ün MD patofizyolojisindeki rolleri henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Otsuki ve arkadaşları MD hastalarında tedavi sonrası serum BDNF düzeyi artışının diğer nörotrofik faktörlerin (NT-3 vb.) düzeyindeki azalmayla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.<sup>32</sup> Çalışmamızda MD hastalarında NT-3 ve NT-4 gen ekspresyonlarının kontrol grubuna göre farklılık göstermediğini saptadık. Bu veri, saptadığımız BDNF gen ekspresyon düzeyi artışı ile birlikte değerlendirildiğinde Otsuki ve

arkadaşlarını desteklemektedir. Oğlodek ve arkadaşları ise, serum NT-3 düzeyinin MD'li kadın hastalarda erkek hastalara göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.<sup>13</sup> Araştırmamız, erkek MD hastalarının NT-3 ve NT-4 gen ekspresyon düzeylerinin kontrol grubundaki erkeklerle göre daha yüksek olmasına rağmen, MD grubunda cinsiyet yönünden bir fark olmadığını göstermektedir.

## SONUÇ

Bu çalışmada MD'li hastalarda, lökositlerdeki BDNF gen ekspresyonunun arttığı ve farmakolojik tedavi sırasında değişmediği, NT-3 ve NT-4 gen ekspresyonu için herhangi bir değişim olmadığı gösterildi. Antianksiyete ve antidepresan etkisi bilinen BDNF geninin lökositlerdeki ekspresyon artışı, MD hastalarının tanı ve tedavi izlemesinde kullanılması önerilen serum BDNF düzeyine katkı sağlayabileceği için önemlidir. Çalışmamızın sınırlılıkları arasında MD hasta grubumuzun küçüklüğü ve hasta grubunda tedavi öncesi BDNF gen ekspresyon verilerinin olmaması sayılabilir. Bir diğer önemli sınırlılık, MD'li hastalarda serum BDNF düzeylerinin belirlenmemiş olması gibi görünse de, kan hücrelerinde BDNF gen ekspresyon düzeyinin yüksek bulunması, serum BDNF düzeyine olan katkısını destekler niteliktedir.

Nörotrofinler normal nörogenez ve nöroplastisitede birlikte görev aldıklarından, nöropatolojik durumlarda da birlikte yer almaları beklenir. Bu nedenle, MD hastalarında BDNF, NT-3 ve NT-4'ün birlikte çalışılması hastalık etiyolojisindeki rollerinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Verilerimiz, kanda üretilen BDNF'nin beyin işlevi ve davranışı üzerinde etkili olabileceğini düşündürdüğünden MD patofizyolojisini anlamada potansiyel bir klinik çıkarım ortaya koymaktadır.

## Teşekkür

*Hasta ve kontrol grubunun oluşturulmasındaki destekleri için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına, çalışmaya katılmayı kabul eden MD hasta ve kontrol grubu bireyleri ile ailelerine ve istatistik analizleri yapan Dr. Öğr. Üyesi Didem Derici Yıldırım'a teşekkür ederiz.*

**Yazarların katkıları:** D.Y.B.: Hipotezin oluşturulması, moleküler genetik çalışmalar, makale yazımı; Ö.İ.A.: Hipotezin oluşturulması, moleküler genetik çalışmalar, verilerin değerlendirilmesi, makale yazımı; M.E.A.: Verilerin değerlendirilmesi, makale yazımı; Ü.K.: Moleküler genetik çalışmalar; A.İ.K.: Örneklemin oluşturulması, verilerin değerlendirilmesi; M.E.E.: Moleküler genetik çalışmalarda danışman.

## KAYNAKLAR

1. Friedman ES, Anderson IM. *Handbook of Depression*. Second ed., USA: Springer Healthcare, 2011.
2. Schechter LE, Ring RH, Beyer CE, Hughes ZA, Khawaja

- X, Malberg JE, et al. *Innovative approaches for the development of antidepressant drugs: current and future strategies*. *NeuroRx* 2005; 2:590-611.

3. Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, De Girolamo G, et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med* 2011; 9(90):1-16.
4. Fava M, Kendler KS. Major depressive disorder. *Neuron* 2000; 28:335-341.
5. Corfield EC, Yang Y, Martin NG, Nyholt DR. A continuum of genetic liability for minor and major depression. *Transl Psychiatry* 2017; 7:1-7.
6. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4:299-309.
7. Neto FL, Borges G, Torres-Sanchez S, Mico JA, Berrocoso E. Neurotrophins role in depression neurobiology: a review of basic and clinical evidence. *Curr Neuropharmacol* 2011; 9:530-552.
8. Castren E, Rantamaki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: reactivation of developmental plasticity. *Dev Neurobiol* 2010; 70:289-297.
9. Matricciano F, Bonaccorso S, Ricciardi A, Scaccianoce S, Panaccione I, Wang L, et al. Changes in BDNF serum levels in patients with major depression disorder (MDD) after 6 months treatment with sertraline, escitalopram, or venlafaxine. *J Psychiatr Res* 2009; 43:247-254.
10. Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry* 2008; 64:527-532.
11. Kishi T, Yoshimura R, Ikuta T, Iwata N. Brain-derived neurotrophic factor and major depressive disorder: evidence from meta-analyses. *Front Psychiatry* 2017; 8(308):1-5.
12. Molendijk ML, Bus BAA, Spinhoven P, Penninx BWJH, Kenis G, Prickaerts J, et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in major depressive disorder: state-trait issues, clinical features and pharmacological treatment. *Mol Psychiatry* 2011; 16:1088-1095.
13. Oglodek EA, Just MJ, Szromek AR, Araszkievicz A. Melatonin and neurotrophins NT-3, BDNF, NGF in patients with varying levels of depression severity. *Pharmacol Rep* 2016; 68:945-951.
14. Gonul AS, Akdeniz F, Taneli F, Donat O, Eker C, Vahip S. Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2005; 255:381-386.
15. Lommatzsch M, Zingler D, Schuhbaeck K, Schloetcke K, Zingler C, Schuff-Werner P, et al. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiol Aging* 2005; 26:115-123.
16. Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Zhang H, Pavuluri MN. Brain-derived neurotrophic factor gene and protein expression in pediatric and adult depressed subjects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010; 34:645-651.
17. Buturak SV, Basterzi AD, Yazici A, Yazici K, Acar ST. Comorbid disorders in outpatients with major depressive disorder and their sociodemographical aspects. *J Mood Disorders* 2011; 1:7-13.
18. Shimizu E, Hashimoto K, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in schizophrenia are indistinguishable from controls. *Neurosci Lett* 2003; 351(2):111-114.
19. Huang TL, Lee CT, Liu YL. Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: effects of antidepressants. *Psychiatric Res* 2008; 42:521-525.
20. Colle R, Trabado S, David DJ, Brailly-Tabard S, Hardy P, et al. Plasma BDNF level in major depression: biomarker of the Val66Met BDNF polymorphism and of the clinical course in met carrier patients. *Neuropsychobiology* 2017; 75:39-45.
21. Aldoghachi AF, Tor YS, Redzun SZ, Bin Lokman KA, Abdul Razaq NA, et al. Screening of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) single nucleotide polymorphisms and plasma BDNF levels among Malaysian major depressive disorder patients. *PLoS One* 2019; 14(1):1-19.
22. Ziegenhorn AA, Schulte-Herbrüggen O, Danker-Hopfe H, Malbranc M, Hartung HD, Anders D, et al. Serum neurotrophins-a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging* 2007; 28:1436-1445.
23. Paccinni A, Marazziti D, Catena M, Domenici L, Del Debbio A, Bianchi C, et al. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *J Affect Disord* 2008; 105:279-283.
24. Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11:1169-1180.
25. Sheldrick SA, Ilieva PR, Michel TM. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and neurotrophin 3 (NT3) levels in post-mortem brain tissue from patients with depression compared to healthy individuals-a proof of concept study. *Eur Psychiatry* 2017; 46:65-71.
26. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998; 37:1553-1561.
27. Brunoni AR. Lower mRNA BDNF expression in lymphocytes: endophenotype or epiphenomenon for major depression? (Letters to Editor) *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010; 34:1160.
28. Cattaneo A, Bocchio-Chiavetto L, Zanardini R, Milanese E, Placentino A, Gennarelli M. Reduced peripheral brain-derived neurotrophic factor mRNA levels are normalized by antidepressant treatment. *Int J Neuropsychopharmacol* 2010; 13:103-108.
29. 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.
30. Yoshimura R, Mitoma M, Sugita A, Hori H, Okamoto T, Umene W, et al. Effects of paroxetine or milnacipran on serum brain-derived neurotrophic factor in depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31:1034-1037.
31. Hing B, Sathyaputri L, Potash JB. A comprehensive review of genetic and epigenetic mechanisms that regulate BDNF expression and function with relevance to major depressive disorder. *Am J Med Genet* 2018; 177:143-167.
32. Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Fujimoto M, Matsubara T, et al. Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiatr Res* 2008; 42:1145-1153.