

Varianta p.Val66Met v genu pro mozkový neurotrofní faktor (*BDNF*) v české populaci

Single Nucleotide Polymorphism p.Val66Met in *BDNF* Gene in the Czech Population

Souhrn

Cíl: Stanovení alelové frekvence polymorfizmu p.Val66Met (rs6265) v genu pro mozkový neurotrofní faktor (brain-derived neurotrophic factor; *BDNF*) v české populaci. Přítomnost polymorfizmu p.Val66Met v genu *BDNF* je spojována s porušeným intracelulárním transportem a sekrecí *BDNF*. Změny v expresi a funkci *BDNF* jsou spojeny s různými onemocněními mozku a představují jeden z mechanismů odpovědi na stres. **Soubor a metodika:** Retrospektivně bylo v kontrolní skupině vyšetřeno 317 vzorků DNA jedinců z české populace (173 mužů a 144 žen) ve věku 45–81 let. Polymorfismus p.Val66Met v genu *BDNF* byl vyšetřen analýzou křivek tání. **Výsledky:** Frekvence mutantní alely (A) v kontrolní skupině činila 16,3 %; frekvence standardní alely (G) činila 83,7 %. **Závěr:** Byla stanovena frekvence polymorfizmu p.Val66Met v genu *BDNF*, která je srovnatelná s frekvencemi v okolních zemích.

Abstract

Aim: To determine the allele frequency of the p.Val66Met (rs6265) polymorphism in *BDNF* gene (brain-derived neurotrophic factor, *BDNF*) in the Czech population. The p.Val66Met (rs6265) polymorphism in the *BDNF* gene is associated with impaired intracellular trafficking and secretion of *BDNF*. Alterations in *BDNF* expression and function are involved in different brain disorders and represent a major downstream mechanism for stress response. **Material and methods:** Retrospectively, 317 DNA control samples of Czech individuals aged between 45 and 81 years (173 men and 144 women), were examined for p.Val66Met polymorphism in the *BDNF* gene using the melting analysis. **Results:** Frequency of the mutant allele (A) was 16.3% and it was 83.7% for the wild type allele (G). **Conclusion:** The frequency of the p.Val66Met polymorphism in the *BDNF* gene in the Czech population was determined.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

S. Walczysková¹, P. Ressler²,
Š. Hilscherová¹

¹ Laboratoř DNA diagnostiky, oddělení lékařské genetiky, FN Ostrava

² Ambulance pro extrapyramidová onemocnění a kognitivní poruchy, Neurologická klinika, LF OU a FN Ostrava



RNDr. Sylwia Walczysková
Oddělení lékařské genetiky
FN Ostrava
17. listopadu 1790/5
708 52 Ostrava
e-mail: sylwia.walczyskova@fno.cz

Přijato k recenzi: 11. 5. 2017

Přijato do tisku: 27. 7. 2017

Klíčová slova

mozkový neurotrofní faktor (*BDNF*) –
jednonukleotidový polymorfismus –
genotyp – česká populace

Key words

brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) –
single nucleotide polymorphism –
genotype – Czech population

Tato dílčí práce vznikla ve Fakultní nemocnici Ostrava v rámci projektu RVO-FNOs/2013 podpořeného z prostředků Institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace.

Úvod

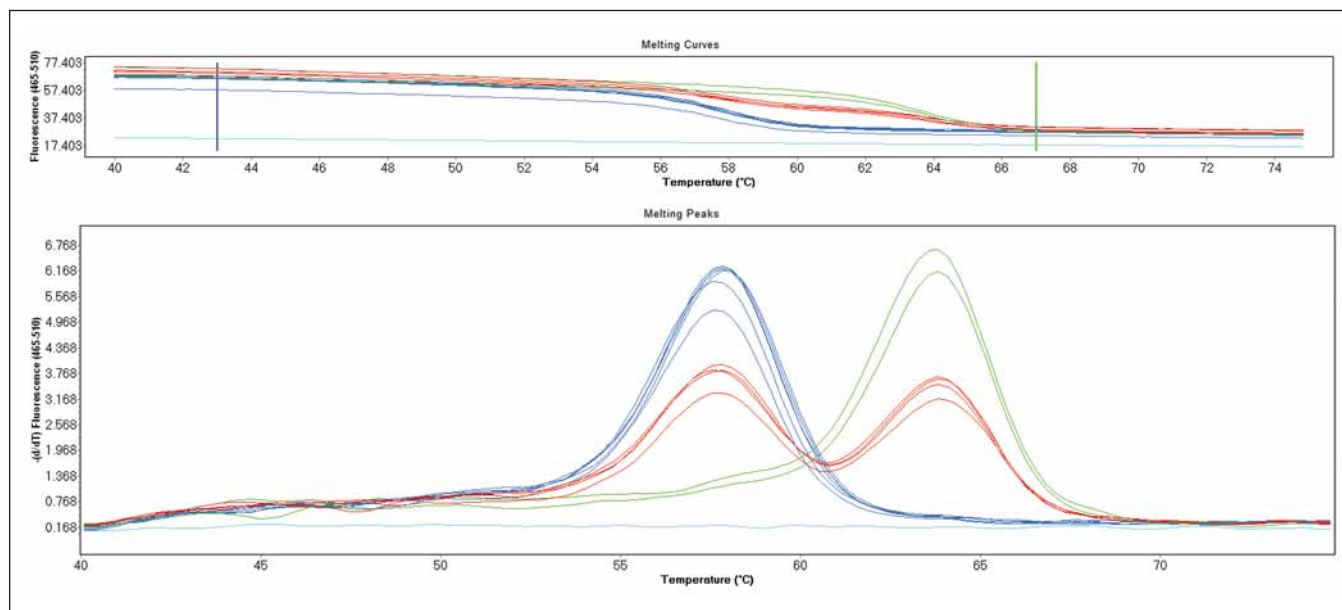
Jedním z důležitých faktorů v procesu učení a tvorby paměti je mozkový neurotrofní faktor BDNF (brain-derived neurotrophic factor), jenž reguluje plasticitu synapsí, růst axonů, proliferaci dendritů a diferenciaci neuronů. Má také vliv na kognici, chování, odpověď na stres aj. [1–3]. BDNF je kódován genem, který je uložen na krátkém raménku chromozomu 11 v oblasti 11p13. Změny v hladině tohoto neurotrofního faktoru, většinou jeho snížení, jsou spojovány s kognitivním deficitem. BDNF prostupuje hematoencefalickou bariérou [4], jeho hladina v plazmě může odrážet hladinu BDNF v centrálním nervovém systému, a tím případně vyjadřovat míru mentálního deficitu a stupeň degenerace mozkové tkáně [5]. BDNF má rovněž vliv na klíčové neurotransmiterové systémy: dopaminergní, glutamatergní a serotonergní [6]. V genu *BDNF* bylo popsáno množství polymorfizmů. Jedním z nejčastěji studovaných jednonukleotidových polymorfizmů je c.196G > A (rs6265), způsobený záměnou aminokyseliny valinu v kodónu 66 za methionin (p.Val66Met). Dává tak vznik třem možným genotypům (Val/Val, Val/Met, Met/Met). Frekvence jeho mutantní alely (A) se liší od téměř nulové frekvence v Africe až po 54 % v Asii a takřka 20% frekvenci v kavkazské populaci (údaje z finské, britské – Anglie a Skotsko a iberské populace ve Španělsku plus z oblasti Toskánska

(1,000 genome project). Význam jednonukleotidového polymorfizmu p.Val66Met v genu *BDNF* je široce studován v souvislosti s mnoha stavy, jako jsou např. vnímavost vůči migréně [7], závislost na heroinu [8], u psychiatrických onemocnění (zvláště u úzkosti a deprese, schizofrenie, panické poruchy, posttraumatické stresové poruchy (PTSD)) [3,9,10], u obezity pacientů trpících bipolární poruchou [11], u Rettovy choroby, Alzheimerovy choroby, Huntingtonovy choroby aj.

V *in vitro* experimentech na kultivovaných neuronech hippocampu provedených autory Egan et al byla mutantní alela (A) sledovaného jednonukleotidového polymorfizmu spojována s nižší expresí BDNF [2].

Snížení hladiny BDNF u pacientů s depresivní poruchou však mohou způsobovat environmentální vlivy, jako je např. stres [1,3]. Ve studii autorů Lang et al byla zjištěna souvislost mezi koncentrací BDNF v séru a genotypem p.Val66Met, kdy standardní alela (G) byla spojována spíše s nižší hladinou BDNF v séru u zdravých jedinců. Pacienti s depresivní poruchou, nižší hladinou sérového BDNF a genotypem Val/Val mohou být více vnímaví k rozvoji příznaků deprese. Mohou však pozitivně reagovat na léčbu antidepresivy zvýšením hladiny BDNF [12]. Novější longitudinální studie autorů Bus et al, která sledovala změny v hladině BDNF v séru pacientů s chronickou depresivní poruchou a v kont-

rolní skupině, naznačuje nejen, že BDNF se podílí na depresi, ale také projevy deprese se mohou podílet na snížení hladiny BDNF [13]. Další čtyřletá studie autorů Ihara et al ukazuje, že hladiny BDNF v séru měřené u skupiny pacientů s depresivní poruchou (a dalších poruch spojených se změnami nálady) nejsou nižší v porovnání se skupinou s depresivními epizodami. Dlouhodobě snížené hladiny BDNF v séru u pacientů s depresivní poruchou jsou spíše příznakem stavu (state marker) než rysem poruchy (trait marker) a je možné, že jeho hladiny se snižují několik měsíců před rozvojem depresivní poruchy [14]. U jedinců s PTSD byla zjištěna podstatně vyšší frekvence genotypů Met/Met a Val/Met než u jedinců bez PTSD. Frekvence mutantní alely (A) byla dvojnásobná (33,3 vs. 17,5 %) [15]. Studie podporující status jednonukleotidového polymorfizmu p.Val66Met v genu *BDNF* jako rizikového faktoru pro PTSD jsou popsány v pracích autorů Bruenig et al nebo Pivac et al [10,16]. Mozkový neurotrofní faktor byl navržen jako možný biomarker rizika vzniku PTSD, autoři uvádí jeho ochranný efekt standardní alely při zvýšené expozici stresu [15]. Napak dřívější studie autorů Zhang et al našla spojitost mezi variantami v genu *BDNF* (vč. p.Val66Met) a PTSD, Alzheimerovou chorobou nebo schizofrenií [17]. Je možné, že hladiny BDNF v séru ovlivňují i jiné faktory než přítomnost deprese [18]. Kromě toho



Obr. 1. Genotypizace pomocí křivek tání na přístroji LightCycler 480 II - polymorfismus p.Val66Met v genu *BDNF*. Pík při 59 °C značí standardní alelu, pík při teplotě 64 °C značí mutantní alelu.

Fig. 1. LightCycler 480 II melting curves genotyping analysis – p.Val66Met polymorphism in *BDNF* gene. Peak at melting temperature 59 °C indicates wild type allele, peak at 64 °C indicates mutant allele.

Tab. 1. Stanovení frekvence polymorfismu p.Val66Met v genu *BDNF*.

Soubor	n	Genotyp			Frekvence alel	
		Val/Val (%)	Val/Met (%)	Met/Met (%)	Val (%)	Met (%)
kontroly	317	227 (72)	77 (24)	13 (4)	531 (83,7)	103 (16,3)

nebyl vždy ke kontrolním studiím vybrán konzistentní soubor jedinců ze stejné populace, jako byla populace pacientů, přičemž rozdíly v alelové frekvenci mezi populacemi ukazují na specifitu etnik [14,19].

Materiál a metody

Jednonukleotidový polymorfismus p.Val66Met (c.196G > A) v genu *BDNF* byl vyšetřen analýzou křívek tání na přístroji Light-Cycler 480 II (Roche) pomocí fluorescenčně značených sond (TIB MOLBIOL) viz obr. 1. Stanovení genotypu pro zmíněný jednonukleotidový polymorfismus bylo provedeno retrospektivně ve skupině 317 kontrolních vzorků DNA české populace (173 mužů a 144 žen) ve věku 45–81 let (věkový průměr mužů 66 let, věkový průměr žen 68 let).

Výsledky

Frekvence mutantní alely (A) v kontrolní skupině činila 16,3 %; frekvence standardní alely (G) činila 83,7 %, souhrnné výsledky zobrazuje tab. 1.

Diskuze

Předmětem této studie bylo stanovení frekvence jednonukleotidového polymorfismu p.Val66Met v genu *BDNF* ve vzorku české populace.

Rozpory ve zjištěných hladinách *BDNF* v rámci různých studií mohou být způsobeny rozdílnými metodami měření nebo právě v rozdílech ve zkoumaných vzorcích populace [5,19]. V literatuře dosud chyběly studie mapující frekvenci jednonukleotidového polymorfismu p.Val66Met v české populaci. Zjištěná frekvence mutantní alely (A) 16,3 % v české populaci se blíží frekvenci v britské (16 %) a finské populaci (17 %). V polské populaci byla stanovena frekvence 17 % [20]. Zajímavá je 18% frekvence popsána v populaci Telugu, Indů žijících v Anglii (1,000 genome project). Migrace této populace do Evropy není v odborné literatuře popsána. Jedná se o Indy mluvící jazykem telugu (třetím nejčastějším úředním jazykem v Indii), kteří v 80. letech 20. století masivně migrovali nejvíce

do USA nebo Kanady jako studenti nebo IT pracovníci.

V odborné literatuře převládají studie, které nezjistily významnou korelaci mezi variantami *BDNF* (p.Val66Met) a hladinou *BDNF* v plazmě [21,22]. Vyšetření ke stanovení hladiny *BDNF* v krvi není v České republice běžně dostupné. Zatím se provádí v rámci výzkumných projektů jako možný marker predikce neurodegenerativních onemocnění.

Četné studie se rozcházejí v přínosu sledování polymorfismu p.Val66Met v genu *BDNF*, hlavně u pacientů s depresí, nicméně novější studie autorů Colle et al popisují negativní vliv genotypu výše uvedeného polymorfismu na odpověď na různé typy antidepresiv (SSRI a SNRI/TCA) a poukazuje tak na možnost personalizované léčby [23].

Ukazuje se, že analýza genu *BDNF* může být velmi slibná v diagnostice a predikci vyjádření některých symptomů u vybraných neurodegenerativních onemocnění. Ve starší práci autorů Nectoux et al je zajímavá zmínka o polymorfismu p.Val66Met v *BDNF* genu, který může predikovat, zda dojde či nedojde k časnému výskytu epileptických záchvatů u pacientů s Rettovým syndromem [24].

Závěr

Polymorfismus p.Val66Met v genu *BDNF* ukazuje na možnost ovlivnění spektra symptomatického vyjádření, tedy fenotypového obrazu Rettova syndromu, ale i u některých výše uvedených neurologických a psychiatrických nozologických jednotek, kde je tento polymorfismus studován. Jednoznačná doporučení pro vyšetření sledovaného polymorfismu v genu *BDNF* v běžné klinické praxi zatím nejsou dostupná, ale již probíhající studie a recentní výsledky jsou slibné v možném otevření nových cest, jak chápat polymorfismus některých, zejména neurodegenerativních, onemocnění. Jako pravděpodobná se ukazuje nová možnost personalizované léčby některých onemocnění, jež by zvýšila účinnost již dostupné léčby. Slibně to dokládají data u pacientů s depresí o odpovědi na léčbu různými typy antidepre-

siv v závislosti na polymorfismu p.Val66Met v genu *BDNF* [23].

Literatura

- Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59:1116–27.
- Egan MF, Kojima M, Callicott JH, et al. The *BDNF* val66met Polymorphism Affects Activity-Dependent Secretion of *BDNF* and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell* 2003;112:257–69.
- Begni V, Riva MA, Cattaneo A. Cellular and molecular mechanisms of the brain-derived neurotrophic factor in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)* 2016;131(2):123–138. doi: 10.1042/CS20160009.
- Pan W, Banks WA, Fasold MB, et al. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998;37(12):1553–61.
- Chen SL, Lee SY, Chang YH, et al. The *BDNF* Val66Met polymorphism and plasma brain-derived neurotrophic factor levels in Han Chinese patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014;51:99–104. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.012.
- Mandelman SD, Grigorenko EL. *BDNF* Val66Met and cognition: all, none, or some? A meta-analysis of the genetic association. *Genes Brain Behav* 2012;11(2):127–36. doi: 10.1111/j.1601-183X.2011.00738.x.
- Coskun S, Varol S, Ozdemir HH, et al. Association of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor gene polymorphisms with susceptibility to migraine. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2016;19(12):1779–85. doi: 10.2147/NDT.S108814.
- Jin T, Zhang H, Yang Q, et al. The relationship between polymorphisms of *BDNF* genes and heroin addiction in the Han Chinese population. *J Gene Med* 2016;18(10):288–293. doi: 10.1002/jgm.2927.
- Chen K, Wang N, Zhang J, et al. Is the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene associated with panic disorder? A meta-analysis. *Asia Pac Psychiatry* 2015;9(2):e12228. doi:10.1111/appy.12228.
- Bruenig D, Lurie J, Morris CP, et al. A Case-Control Study and Meta-Analysis Reveal *BDNF* Val66Met Is a Possible Risk Factor for PTSD. *Neural Plast* 2016;2016:6979435. doi: 10.1155/2016/6979435.
- Morales-Marín ME, Genis-Mendoza AD, Tovilla-Zarate CA, et al. Association between obesity and the brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism Val66Met in individuals with bipolar disorder in Mexican population. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2016;25(12):1843–8. doi: 10.2147/NDT.S104654.
- Lang UE, Hellweg R, Sander T, et al. The Met allele of the *BDNF* Val66Met polymorphism is associated with increased *BDNF* serum concentrations. *Mol Psychiatry* 2009;14(2):120–2. doi: 10.1038/mp.2008.80.
- Bus BA, Moledijk ML, Tendolkar I, et al. Chronic depression is associated with a pronounced decrease in serum brain-derived neurotrophic factor over time. *Mol Psychiatry* 2015;20(5):602–8. doi:10.1038/mp.2014.83.
- Ihara K, Yoshida H, Jones PB, et al. Serum *BDNF* levels before and after the development of mood disorders: a case-control study in a population cohort. *Transl Psychiatry* 2016;6:e782. doi: 10.1038/tp.2016.47.
- Zhang L, Li X, Hu XZ. Post-traumatic stress disorder risk and brain-derived neurotrophic factor Val66Met. *World J Psychiatr* 2016;6(1):1–6. doi:10.5498/wjp.v6.i1.1.
- Pivac N, Nikolac M, Nedic M, et al. Brain derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and psychotic symptoms in Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35(2):356–62.
- Zhang H, Ozbay F, Lappalainen J, et al. Brain derived neurotrophic factor (*BDNF*) gene variants and Alzheimer's disease, affective disorders, posttrau-

matic stress disorder, schizophrenia, and substance dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006;141B:387–93. doi: 10.1002/ajmg.b.30332.

18. Elfving B, Buttenschön HN, Foldager L, et al. Depression, the Val66Met polymorphism, age, and gender influence the serum BDNF level. *J Psychiatr Res* 2012;46(9):1118–25. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.05.003.

19. Petryshen TL, Sabetti PC, Aldinger KA, et al. Population genetic study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Mol Psychiatry* 2010;15(8):810–15. doi: 10.1038/mp.2009.24.

20. Wilkość M, Szalkowska A, Skibińska M, et al. BDNF gene polymorphisms and haplotypes in relation to cognitive performance in Polish healthy subjects. *Acta Neurobiol Exp* 2016;76:43–52.

21. van den Heuvel L, Suliman S, Malan-Müller S, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism and plasma levels in road traffic accident survivors. *Anxiety Stress Coping* 2016;29(6):616–29. doi: 10.1080/10615806.2016.1163545.

22. Chen SL, Lee SY, Chang YH, et al. The BDNF Val66Met polymorphism and plasma brain-derived neurotrophic

factor levels in Han Chinese heroin-dependent patients. *Sci Rep* 2015;5:8148. doi: 10.1038/srep08148.

23. Colle R, Deflesselle E, Martin S, et al. BDNF/TRKB/P75NTR polymorphisms and their consequences on antidepressant efficacy in depressed patients. *Pharmacogenomics* 2015;16(9):997–1013. doi: 10.2217/pgs.15.56.

24. Nectoux J, Bahi-Buisson N, Guellec I, et al. The p.Val66Met polymorphism in the BDNF gene protects against early seizures in Rett syndrome. *Neurology* 2008;70(22):2145–51. doi: 10.1212/01.wnl.0000304086.75913.b2.

Poděkování partnerům České neurologické společnosti



MERCK



zlatí partneři



bronzový partner