

# A hangulati dimenziók és a glia-eredetű növekedési faktort kódoló gén polimorfizmusainak összefüggése depresszióval diagnosztizált mintán

KOTYUK ESZTER<sup>1</sup>, NÉMETH NÓRA<sup>2</sup>, HALMAI ZSUZSA<sup>3</sup>, FALUDI GÁBOR<sup>3</sup>, SASVÁRI-SZÉKELY MÁRIA<sup>2</sup> és SZÉKELY ANNA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eötvös Loránd Tudományegyetem, Pszichológiai Intézet, Budapest

<sup>2</sup> Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet, Budapest

<sup>3</sup> Semmelweis Egyetem, Kútvölgyi Klinikai Tömb, Pszichiátriai Klinikai Csoport, Budapest

A glia-eredetű növekedési faktor (GDNF) fontos szerepet játszik a dopaminerg neuronok fejlődésében és szinaptikus plaszticitásban, mely hosszú távon a Parkinson betegség gyógyításának egy fontos aspektusa lehet. Ugyanakkor a GDNF génvariánsok pszichiátriai rendellenességekben betöltött szerepével kapcsolatos szakirodalmi eredmények ellentmondásosak, illetve egyáltalán nem vizsgálták a GDNF polimorfizmusai és a major vagy bipoláris depresszió esetleges asszociációját. A közelmúltban munkacsoportunk összefüggést mutatott ki a GDNF gén két polimorfizmusa (rs3812047, rs3096140) és a Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) kérdőívvel mért szorongás egyéni variabilitása között nem klinikai mintán. Jelen közleményben kiterjesztettük ezeket az elemzéseket major- és bipoláris depresszióval diagnosztizált betegpopulációra is: 183 MDD, 116 BP, valamint 1172 kontroll személy rs3812047 és rs3096140 polimorfizmusainak összefüggéseit vizsgáltuk a hangulatzavarokkal. Eset-kontroll elrendezésben a betegcsoportok és a kontroll csoport genotípus gyakoriságait tesztelve nem találtunk szignifikáns eltéréseket. Ugyanakkor a bipoláris alcsoporton belül a szorongás és depresszió skálán is szignifikánsan magasabb átlagpontszámokat mutattak azok, akik az rs3812047 A allélját hordozták ( $p=0.043$ ). Ez az eredmény jól összecseng korábbi, nem klinikai mintán kapott eredményeinkkel. Ugyanakkor ezzel ellentétes eredményt mutattunk ki major depressziós mintán, ahol az rs3812047 G allélja mellett volt szignifikánsan magasabb a depresszió pontszáma ( $p=0.012$ ). A BP és MDD almintáknak és az rs3812047 genetikai variánsainak interakciós hatását sikerült igazolnunk mindkét hangulati dimenzió esetében (szorongás:  $p=0.029$ ; depresszió:  $p=0.004$ ). Összefoglalva, a bipoláris betegcsoportban sikeresen reprodukáltuk a rs3812047 A GDNF génvariáns és a hangulati jellemzők korábban nem-klinikai mintán leírt kapcsolatát, valamint ezzel ellentétes hatást mutattunk ki a major depressziós betegeknél.

*(Neuropsychopharmacol Hung 2013; 15(2): 63-72)*

**Kulcsszavak:** glia-eredetű növekedési faktor (GDNF), rs3812047, rs3096140, bipoláris depresszió, major depresszió, Hospital Anxiety and Depression Scale

A növekedési faktorok, köztük a glia-eredetű növekedési faktor (GDNF), jelentős szerepet játszanak a neuronok fejlődésében, differenciálódásában (Nitta et al., 2004), és ezáltal a szinaptikus plaszticitásban (Granholm et al., 2000). A GDNF kifejezetten dopaminerg hatásúnak tűnik, így a Parkinson betegséggel kapcsolatos kutatások egyik fontos területe lehet, mely klinikai relevanciájú eredményeket implikál

(Nutt et al., 2003; Patel és Gill, 2007; Gill et al., 2003; Yasuhara et al., 2007).

Ugyanakkor a GDNF génvariánsok pszichiátriai rendellenességekben betöltött szerepével kapcsolatban eddig viszonylag kevés és ellentmondásos eredmény született (1. táblázat). A legtöbb genetikai asszociáció analízis a szkizofrénia és a GDNF egy- pontos nukleotid polimorfizmusai (single nucleotid

**1. táblázat** A GDNF polimorfizmusok és a pszichiátriai rendellenességek eredményeinek összefoglalása

GDNF asszociáció kutatások							
		szkizofrénia			ADHD	drogfüggés	
Ref.		<i>Williams és mtsai., 2007</i>	<i>Michelato és mtsai., 2004</i>	<i>Lee és mtsai., 2001</i>	<i>Laurin és mtsai., 2008</i>	<i>Syed és mtsai., 2007</i>	<i>Yoshimura és mtsai., 2011</i>
db SNP No.	pozíció	Eset: N=673, Kontroll: N=716	Eset: N=200, Kontroll: N=212	Eset: N=99, Kontroll: N=98	245 család	120 család, 120 kontroll	Eset: N=219, Kontroll: N=383
rs11111	37814102	n.s.				n.s.	n.s.
rs3749692	37814148					n.s.	
3' UTR (AGG) <sub>n</sub>	37815590	n.s.	p=0.0003	p=0.024			
rs7731209	37816845				n.s.		
rs2973050	37817344	p=0.007			n.s.		
rs2973049	37818139						n.s.
rs2910797	37820365				n.s.		
rs1549250	37821221	n.s.			n.s.		n.s.
rs884344	37824240						n.s.
rs2910704	37827225						p=0.0007
rs2910702	37828304	p=0.040					p=0.007
rs2216711	37828844				n.s.		
rs2973041	37830326	n.s.			n.s.		
rs1862574	37830577					n.s.	
rs12518844	37832759				n.s.		n.s.
rs3096140	37832833	n.s.					
rs10941370	37833419						n.s.
rs3812047	37835398	n.s. (p <sub>a</sub> =0.079)			n.s.		
rs2973033	37839633						p=0.03
rs2975100	37841045	n.s.					
rs12514589	37842431					n.s.	
rs1981844	37845143	n.s.					

polymorphism, SNP) közötti összefüggést vizsgálta, az eredmények azonban nem konzekvensek. Egy japán kutatócsoport a GDNF 3' nem-átíródo végén (3' untranslated region, 3'UTR) található trinukleotid ismétlődését vizsgálta 99 szkizofrén, és 98 kontroll személy adatai alapján. Eredményeik szerint az (AGG)<sub>10</sub>-es ismétlődés gyakoribb volt a szkizofrén-

ával diagnosztizáltak csoportjában a kontroll csoport-hoz képest, azonban az eredmények nem maradtak szignifikánsak a többszörös tesztelés utáni korrekció után (Lee et al., 2001). Ezzel szemben egy olasz kutatócsoport azt találta, hogy a GDNF 3' UTR-jében található trinukleotid szekvencia több mint 15-ször gyakrabban fordul elő a kontroll csoportban, mint

a klinikai mintában (Michelato et al., 2004). Egy újabb, igen nagy elemszámú pszichiátriai genetikai vizsgálat 9 GDNF SNP előfordulási gyakoriságát tesztelte 673 szkizofréniával diagnosztizált, illetve 716 kontroll személy alapján. A kapott két, nominálisan szignifikáns eredmény (rs2973050, rs2910702) a permutációs tesztelést követően már nem volt szignifikáns (Williams et al., 2007). Mindezek alapján úgy tűnik, hogy a szkizofrenia hátterében a dopaminerg rendszer- és a neurális rendszer fejlődésén keresztül a GDNF egy lehetséges kandidáns gén, az egyes génváltozatok egyedi hatásainak feltárásához azonban további vizsgálatokra van szükség.

A GDNF polimorfizmusokat szintén vizsgálták a figyelemhiányos hiperaktivitás-zavarral (attention deficit hyperactivity disorder, ADHD) kapcsolatban. Eset-kontroll elemzésben nem találtak szignifikáns különbséget az ADHD-s gyermek, a szülők és a kontroll csoport genotípus előfordulási gyakoriságában (Syed et al., 2007). Családvizsgálatban sem találtak szignifikáns összefüggést se az ADHD és a tesztelt GDNF polimorfizmusok előfordulási gyakorisága között, se a kvantitatív elemzések során (Laurin et al., 2008).

Egy japán kutatócsoport ugyanakkor szignifikáns összefüggést mutatott ki a GDNF rs2910704 SNP-je és a drogfüggőség között, mely hatás a többszörös tesztelés utáni korrekció után is szignifikáns volt (Yoshimura et al., 2011).

Mindazok ellenére, hogy a hangulatzavarok és a monoamin rendszer (Ruhe et al., 2007; Du et al., 2002), ezen belül a dopamin szerepe jól ismert (Greenwood et al., 2001; Serretti et al., 2001; Lopez Leon et al., 2005; Argyelan et al., 2005), legjobb tudásunk szerint eddig még nem vizsgálták a GDNF polimorfizmusai és a major vagy bipoláris depresszió esetleges együtt járását. A hangulati dimenziókkal és hangulatzavarokkal kapcsolatban eddig főképp az agyi eredetű növekedési faktor (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) genetikai variánsait tesztelték, ami számos esetben összefüggést mutatott a mért fenotípussal (Sklar et al., 2002; Hunnerkopf et al., 2007; Loria et al., 2013; Strauss et al., 2005; Faludi et al., 2012; Kozicz et al., 2008; Bagdy et al., 2012). Ugyanakkor a hangulatzavarokkal diagnosztizált betegek GDNF plazma szintjének összehasonlító vizsgálatai érdekes eredményeket mutattak. Egyes közlemények magasabb GDNF plazma szintet írtak le időskori depresszióval diagnosztizáltaknál (Wang et al., 2011), valamint bipoláris depresszió (Rosa et al., 2006; Barbosa et al., 2011) esetében is az egészséges kontroll személyek GDNF plazma szintjéhez képest.

Más kutatási eredmények ugyanakkor alacsonyabb GDNF expressziót találtak a bipoláris depressziós személyek perifériális fehérvérsejtjeiben (Otsuki et al., 2008; Diniz et al., 2012) a kontroll csoportéhoz képest. Poszt-mortem agyszöveti vizsgálatok szerint a depresszióval diagnosztizáltaknál emelkedett GDNF koncentráció mutatható ki a parietális kéregben, 7 depressziós és 14 egészséges személy vizsgálata alapján (Michel et al., 2008). Mindezek alapján elmondható, hogy a hangulatzavarok és a GDNF plazmaszint közötti összefüggést vizsgáló kutatások eredményei ellentmondásosak, a GDNF fehérjét kódoló génváltozatok szerepét feltérképező asszociációkutatást pedig eddig még nem végeztek a depresszió vonatkozásában.

Munkacsoportunk kurrens eredményei alapján szignifikáns összefüggés van a GDNF két SNP-je (rs3812047 és rs3096140) és nagy létszámú (N=708) egészséges minta hangulati jellemzői között (Kotyuk et al., kézirat beküldve). A szorongás és depresszió kvantitatív jellemzése a Hospital Anxiety and Depression Scale (Zigmond és Snaith, 1983) kérdőívvel (HADS) történt. A hangulati kórképek jellemzésében, diagnosztizálásában általánosan használt BACK és PRIME-MD kérdőívek mellett (Torzsa et al., 2008) a HADS kérdőív alkalmazása is elterjedt. Számos nyelvre lefordítottak (Herrmann, 1997) és változatos populációk jellemzésére (szomatikus, pszichiátriai, illetve egészséges személyek) használják (Bjelland et al., 2002). Mindkét polimorfizmus esetében a minor allélt (rs3812047 A, rs3096140 C) hordozók számoltak be átlagosan magasabb szorongás pontszámról. Ezekből az eredményekből kiindulva a jelen közleményben ennek a két GDNF polimorfizmusnak az összefüggéseit vizsgáltuk meg a hangulati dimenziók mentén szélsőségesebb értékeket mutató major-, valamint bipoláris depresszióval diagnosztizált betegek csoportjaiban. Az elemzések során mind eset-kontroll elrendezés alapján, mind pedig a hangulati jellemzők HADS kérdőívvel mért kvantitatív értékek alapján is számoltunk.

## MÓDSZEREK

### Résztvevők

A Semmelweis Egyetem Kútvölgyi Klinikai Tömb Klinikai és Kutatási Mentálhigiénés Osztályán kezelt major depressziós és bipoláris depressziós betegek közül összesen 299 személy vett részt a vizsgálatban. A klinikai minta átlagéletkora 47 ( $\pm 11$ ) év (min.: 19, max.: 70 életév) volt, a nemi megoszlás: 25% férfi;

75% nő. A betegek primer diagnózisát a DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994) kritériumai alapján határozták meg. A betegek 61%-a major depresszióval diagnosztizált volt (MDD; N=183), ebben az alcsoportban az átlagéletkor 48 ( $\pm 12$ ) év, a nemi arány: 25.7% férfi; 74.3% nő volt. A minta 38.7%-a bipoláris depresszióval diagnosztizált volt (BP; N=116), ahol az átlagéletkor 45 ( $\pm 11$ ) év volt; a nemi arány: 24.1% férfi; 75.9% nő.

A kontroll csoportba önbeszámolóik alapján pszichiátriai kezelésben nem részesült egyetemista és főiskolai hallgatókat, valamint idősotthonokból és idősklubokból önkénteseket vontuk be. A kontroll minta összesen 1172 főből állt, az átlagéletkor 25 ( $\pm 11$ ) év (min.:18, max.: 92 életév) volt, a nemi arány: 43.6% férfi; 55.9% nő.

A vizsgálathoz a résztvevők írásban járultak hozzá a vizsgálattal kapcsolatos részletes tájékoztatást követően. A vizsgálati protokollt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásügyi Bizottsága (ETT-TUKEB) hagyta jóvá.

### Genotípusmeghatározás

A nem-invazív mintavétel, a DNS izolálása és a vizsgált SNP-k genotípusának meghatározása munkacsoportunk korábbi vizsgálatával azonos módon történt (Kotyuk et al., kézirat beküldve). A vizsgált SNP-k gyakorisági eloszlása megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak (rs3812047 esetében  $p=0.877$ ; az rs3096140 esetében:  $p=0.941$ ).

### Fenotípusmeghatározás

A résztvevők a Hospital Anxiety and Depression Scale (Zigmond és Snaith, 1983) magyar verzióját töltötték ki (Muszbek et al., 2006). A kérdőív 14 tételből áll, amelyek két skálába sorolhatók: 7 tétel a szorongást, 7 tétel pedig a depresszió hangulati dimenziót méri. Mindkét alskála tartalmaz egyenes és fordított tételeket is. Az egyes tételekre adott válaszok pontszámai 0-3 között változhatnak így az egyes skálák maximális pontszáma 21. Az összes résztvevő adatát tartalmazó mintán mind a szorongás (Chronbach alpha=0.852) mind a depresszió alskála (Chronbach alpha=0.902) belső konzisztenciája megbízhatónak bizonyult. A két alskála átlagpontszámok a következőképpen alakultak: klinikai minta: szorongás alskála: 13.71 ( $\pm 4.296$ ), Chronbach alpha=0.793; depresszió alskála: 12.73 ( $\pm 4.831$ ), Chronbach alpha=0.853; kontroll csoport: szorongás: 5.95 ( $\pm 3.573$ ), Chronbach alpha=0.762; depresszió: 2.88 ( $\pm 2.713$ ), Chronbach alpha=0.706.

A két fenotípus közötti kapcsolat tesztelésére Pearson-féle korrelációt alkalmaztunk. A kapott eredmények azt mutatták, hogy a két alskála pontszámok közepes együtt járást mutatnak ( $r=0.511$ ,  $p<0.001$ ). A HADS kérdőíves adatfelvétel a pszichiátriai kezelés megkezdése előtt történt, és arra kérdez rá, hogy a személyek hogyan érezték magukat az elmúlt egy hétben, tehát az aktuálisan fennálló hangulati mintázatot, kórképet mértük fel.

### Statisztikai analízis

A statisztikai analízist az IBM SPSS Statistics 20 programmal végeztük. Khi-négyzet próba segítségével végeztünk eset-kontroll elemzéseket, illetve ezzel a módszerrel teszteltük a Hardy-Weinberg egyensúlynak való megfelelést. A HADS alskála értékek folytonos változói mentén a nemi különbségek tesztelését független mintás t-próba alapján végeztük. A nők szignifikánsan magasabb szorongás átlagpontszámot mutattak (8.37) mint a férfiak (6.03;  $t=1211.73$   $p<0.001$ ) a teljes mintán. Ez a mintázat jellemző volt a depressziós betegek alcsoportjában is (nők: 14.11 férfiak: 12.26;  $t=-2.892$   $p=0.004$ ). A depresszió alskála esetében nem találtunk nemi különbséget csak a depressziós mintát elemezve, viszont a teljes minta elemzésekor a nők magasabb depresszió pontszámot mutattak (5.26), mint a férfiak (3.99;  $t=-4.502$   $p<0.001$ ). A két alskála és a kor közötti kapcsolatot Pearson korreláció alapján számoltuk. A HADS depresszió alskála (teljes minta:  $r=0.566$   $p<0.001$ ; depressziós minta:  $r=0.188$   $p=0.003$ ) és szorongás alskála (teljes minta:  $r=0.388$   $p<0.001$ ; depressziós minta:  $r=0.106$   $p=0.099$ ) is összefüggést mutatott a korrallal. Ennek megfelelően a mind a nemet, mind a kort, mint kovariánst használtuk a további elemzésekben. A HADS alskála átlagok és a GDNF allélvariánsok közti lehetséges összefüggéseket egyszempontos és többszempontos kovariancia (ANCOVA) analízisekkel végeztük.

## EREDMÉNYEK

### A vizsgált 2 GDNF SNP genotípus gyakorisága hasonló a klinikai és a kontroll mintákban

Eset-kontroll elemzések alapján teszteltük, hogy van-e különbség a klinikai és a kontroll csoport között az egyes genotípusok gyakorisági megoszlásában (2. táblázat). Eredményeink alapján egyik GDNF génváltozat sem szignifikánsan gyakoribb a betegcsoportokban, a kontroll csoportban jellemző előfordulási arányukhoz képest.

**2. táblázat** A GDNF polimorfizmusok eset-kontroll elemzése

	rs3812047				rs3096140			
	GG	GA	AA		TT	TC	CC	
<b>Kontroll csoport</b>	741 (77.2%)	200 (20.8%)	19 (2.0%)		542 (49.4%)	457 (41.7%)	98 (8.9%)	
<b>Klinikai minta</b>	217 (73.1%)	75 (25.2%)	5 (1.7%)	p=0.268	100 (45.2%)	99 (44.8%)	22 (10.0%)	p=0.524
<b>BP</b>	80 (70.2%)	31 (27.2%)	3 (2.6%)	p=0.249	33 (41.8%)	38 (48.1%)	8 (10.1%)	p=0.423
<b>MDD</b>	136 (74.7%)	44 (24.2%)	2 (1.1%)	p=0.457	67 (47.2%)	61 (43.0%)	14 (9.8%)	p=0.862

**3. táblázat** A GDNF polimorfizmusok és a hangulati tényezők dimenzionális elemzése

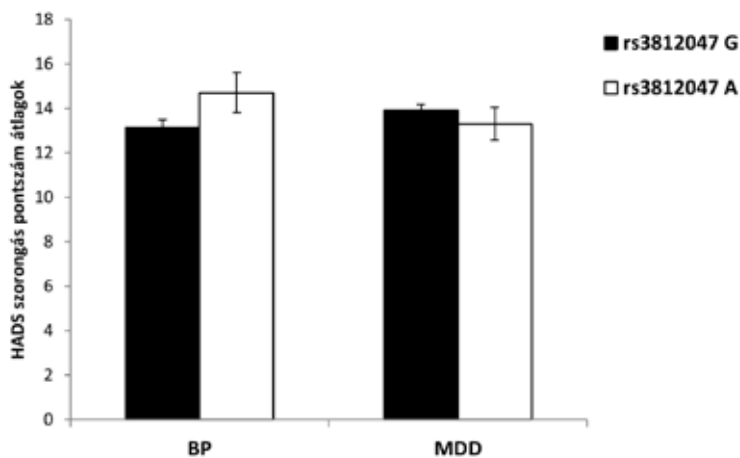
		HADS Szorongás alskála értékek					
		N	BP		N	MDD	
<b>rs3812047</b>	<b>A</b>	30	14.70±4.94		36	13.31±4.45	
	<b>G</b>	146	13.13±4.26	p=0.043	264	13.91±4.17	p=0.261
<b>rs3096140</b>	<b>C</b>	42	13.50±4.35		69	14.41±3.26	
	<b>T</b>	90	13.37±4.38	p=0.936	167	13.58±4.55	p=0.159
		HADS Depresszió alskála értékek					
		N	BP		N	MDD	
<b>rs3812047</b>	<b>A</b>	30	14.17±5.17		37	10.81±5.00	
	<b>G</b>	146	12.66±4.96	p=0.099	267	12.83±4.62	p=0.012
<b>rs3096140</b>	<b>C</b>	42	12.14±5.96		72	12.60±4.42	
	<b>T</b>	90	13.36±4.78	p=0.156	168	12.54±4.88	p=0.873

BP: bipoláris depresszió, MDD: Major depresszió, N: betegszám

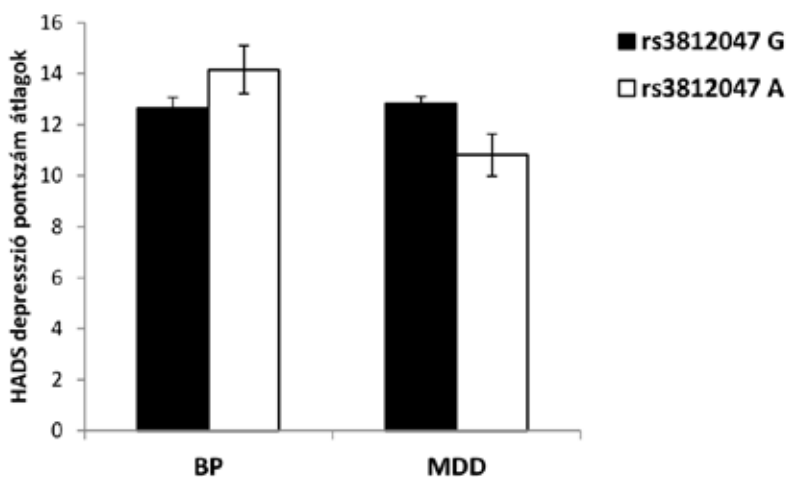
### **Szorongás- és depresszió pontszámok alakulása a BP és MDD csoportokban az egyes genetikai variánsok mellett**

Mind az MDD mind pedig a BP betegcsoportokban vizsgáltuk a GDNF allélok és a HADS kérdőív skálái közötti dimenzionális összefüggéseket allél alapú elemzésekkel (3. táblázat). Bipoláris depresszióval diagnosztizáltak esetében a HADS szorongás átlagpontszáma szignifikánsan magasabb volt ( $F(3,172)=4,138$ ;  $p=0.043$ ;  $\eta^2=0.525$ ;  $\eta^2=0.023$ ) az rs3812047 A allél jelenlétében:  $14.70(\pm 4.94)$  mint a G allél mellett  $13.13(\pm 4.26)$ . A HADS depresszió átlagpontszámok alakulása ebben a betegcsoportban

hasonló irányt mutatott, ugyanakkor a különbség csupán tendenciózus volt ( $F(3,172)=2.748$   $p=0.099$ ;  $\eta^2=0.378$ ;  $\eta^2=0.016$ ). Major depresszióval diagnosztizált alcsoportban a HADS szorongás átlagpontszám nem mutatott szignifikáns különbséget az rs3812047 variánsok függvényében. A depresszió alskála átlagpontszáma azonban szignifikánsan magasabb volt ( $F(3,300)=6.456$   $p=0.012$ ; statisztikai  $\eta^2=0.717$ ;  $\eta^2=0.021$ ) a major depressziós alcsoportban az rs3812047 G allélja mellett:  $12.83(\pm 4.617)$ , mint a G allél hiányakor:  $10.81(\pm 5.00)$ . Az rs3096140 SNP vonatkozásában nem találtunk eltéréseket sem a bipoláris, sem a major depresszióval diagnosztizált mintán egyik HADS alskálán sem.



**1. ábra** A betegség alcsoportok és a GDNF allélok interakciós hatása a HADS kérdőívvel mért szorongás pontszámokra. Az Y-hibasávok a csoportok átlagos alszála értékeinek standard hibáját jelölik.



**2. ábra** A betegség alcsoportok és a GDNF allélok interakciós hatása a HADS kérdőívvel mért depresszió pontszámokra. Az Y-hibasávok a csoportok átlagos alszála értékeinek standard hibáját jelölik.

### **Interakció elemzés: gén-, csoport főhatások és interakciók**

Allél alapú többszemponos varianciaanalízissel megvizsgáltuk, hogy a depresszió és a szorongás tekintében milyen genetikai főhatások, milyen betegség csoport főhatások (BP vagy MDD), és milyen gén-csoport interakciók játszanak fontos szerepet a hangulati dimenziók egyéni különbségeinek kialakításában.

A HADS szorongás alszála elemzése az rs3812047 allélvariánsainak és a klinikai csoportok függvényé-

ben szignifikáns gén-csoport interakciót mutatott (1. ábra). Míg az rs3812047 G allélja mellett a HADS szorongás alszála átlaga nagyjából azonos volt a bipoláris és a major depressziósok esetében (13.13 és 13.91), addig az A allél mellett a bipoláris depressziós alcsoport szignifikánsan magasabb szorongás átlagpontszámmal volt jellemezhető ( $F(5,470)=4.765$   $p=0.029$ ; statisztikai erő=0.586;  $\eta^2=0.010$ ).

A HADS depresszió alszála tesztelő többszemponos varianciaanalízis eredményeit a 2. ábra jeleníti meg. Egyrészt szignifikáns klinikai csoport főhatást



mutattunk ki ( $F(5,474)=189.09$   $p=0.004$ ;  $\eta^2=0.832$ ;  $\eta^2=0.018$ ): a BP alcsoport depresszió pontszáma jellemzően magasabb volt, mint az MDD személyeké. Másrészt egy szignifikáns gén-csoport interakciót is azonosítottunk ( $F(5,474)=188.31$   $p=0.004$ ;  $\eta^2=0.831$ ;  $\eta^2=0.018$ ). Az rs3812047 G allélja mellett a bipoláris depresszióval-, és major depresszióval diagnosztizált alcsoportok közel azonos depresszió átlagpontszámot mutattak:  $12.66 (\pm 4.96)$  illetve  $12.83 (\pm 4.62)$ . Ellenben az rs3812047 A allélja mellett a bipoláris depressziós alcsoport markánsan magasabb depresszió átlagpontszámmal volt jellemezhető ( $14.17 \pm 5.167$ ), mint az A allélt hordozó MDD alcsoport ( $10.81 \pm 5.00$ ), vagy akár mint a korábban említett G allélt hordozó betegcsoportok.

A BP és MDD alcsoportok HADS depresszió és szorongás alszáján mutatott átlagpontszámai a jelen mintán nem különböztek szignifikánsan az rs3096140 függvényében (3. táblázat).

## MEGBESZÉLÉS

Korábbi, egészséges populáción kapott pszichogenetikai asszociáció eredményeink arra utaltak (Kotyuk et al., kézirat beküldve), hogy a GDNF rs3812047 és rs3096140 polimorfizmusok összefügghetnek a hangulati tényezőkkel. Így felmerült a kérdés, hogy kimutatható-e a korábban vizsgált GDNF géntálatok hatása a hangulati zavarok kialakulásában. Jelen közleményben eset-kontroll és kvantitatív elemzést végeztünk major depresszióval és bipoláris depresszióval diagnosztizált személyek bevonásával. Az eset-kontroll modell elemzése alapján egyik SNP gyakorisága sem tért el szignifikánsan a klinikai illetve a kontroll csoportokban, így levonhatjuk azt a következtetést, hogy ezek a genetikai variánsok önmagukban nem rizikófaktorai a hangulati rendellenességeknek. Az eredmények értékelhetőségét limitálja a klinikai minta relatíve kis elemszáma és heterogenitása (BP és MDD betegek). Az eredmények megismétlése nagyobb létszámú, lehetőleg homogen klinikai mintán igen fontos lenne az eredmények pontosításához.

A hangulati tényezők kvantitatív elemzése a HADS kérdőív alapján ugyanakkor érdekes, új eredményeket is mutatott. Úgy tűnik, hogy a GDNF egyes variánsai összefüggésben állnak a szorongás és a depresszió mértékével. A bipoláris alcsoporton belül a szorongás és depresszió alszáján elért pontszámokat elemezve azt kaptuk, hogy az rs3812047 A allélja mellett mind a depresszió, mind a szorongás alszája átlagpontszáma szignifikánsan magasabb volt. Ugyanakkor

a major depressziós almintán egy ezzel ellentétes hatást figyelhettünk meg: ebben a betegcsoportban az rs3812047 G allélja mellett mutattak a személyek magasabb depresszió pontszámot az A allélt hordozókhoz viszonyítva. A kapott eredmények tehát arra utalnak, hogy a vizsgált klinikai alcsoportokban ellentétes irányban hatnak a GDNF rs3812047 variánsai. Mint tudjuk, az unipoláris-, bipoláris depresszió, a szkizofrénia és az ebbe a spektrumba tartozó betegségek egymással átfedő fenotípusok, részben átfedő és részben különböző genetikai predispozícióval (Kelsoe, 2003). Így a jelen eredmények talán azzal magyarázhatók, hogy a GDNF egyes variánsai a depresszió egyes alcsoportjainak betegség-specifikus rizikótényezői. Ugyanakkor fontos a jelen eredmények nagyobb mintán való megismétlése, mivel más kutatási eredmények alapján a dopamin rendszer hasonlóan működik major- és bipoláris depresszióval diagnosztizáltak esetében (Cuellar et al., 2005).

Többszemponos elemzések alapján teszteltük az allélvariánsok és a klinikai csoport interakciós hatását a hangulati dimenziókra (szorongás és depresszió). Az rs3812047 A allélját hordozó bipoláris depressziós alcsoport szorongás és depresszió pontszáma magasabb volt, mint a G allélt hordozó BP alcsoporté, illetve magasabb volt bármely allélvariánst hordozó major depressziós alcsoport értékétől (1. ábra, 2. ábra). A kapott eredmények tehát azt mutatják, hogy a bipoláris depresszióval diagnosztizáltak esetében az rs3812047 hatással van a szorongás és depresszió pontszámokra.

Az előzetesen, egészséges populáción kapott (Kotyuk et al., kézirat beküldve), valamint az itt bemutatott, független mintán nyert eredmények konzisztenciája azt sejteti, hogy a vizsgált GDNF polimorfizmusok valóban összefüggésben állnak a hangulatzavarokkal, illetve a nem klinikai populáció hangulati ingadozásaival. A jelen eredmények összhangban állnak a GDNF plazma szint mérésekkel kapcsolatos, előzetesen publikált eredményekkel is (Wang et al., 2011; Rosa et al., 2006; Barbosa et al., 2011), valamint relevánsak a GDNF és a drogfüggőség genetikai asszociáció vizsgálatával kapcsolatos legújabb eredményekkel is (Yoshimura et al., 2011). A droghasználat és a hangulatzavarok, valamint a depresszió magas komorbiditását több vizsgálat is igazolja (Conway et al., 2006; Grant, 1995; Helzer és Pryzbeck, 1988; Mueller et al., 1994; Stevenson et al., 2009). A szorongásos zavarok (generalizált szorongásos zavar, fóbia, pánik zavarok, kényszeres zavarok) előfordulása gyakoribb drog-, alkohol-, és nikotin-függők esetében, mint a nem függőknél (Farrell et

al., 2001; Breslau, 1995). Kutatócsoportunk korábban asszociációt mutatott ki a dopaminrendszer egy polimorfizmusa és a nikotinfüggőség mértéke között major depressziós mintán (Kotyuk et al., 2009). Azt is kimutatták, hogy a depresszív és szorongásos tünetek nagymértékben hatnak a különböző szerfüggőségre alkalmazott kezelések sikerességére (Compton et al., 2003). Az öngyógyítási elmélet (Khantzian, 1985) alapján a depresszió és a droghasználat magas komorbiditásának legvalószínűbb oka az azonos neurobiológiai háttér (Markou et al., 1998). Egy ikerkutatási eredmény alapján a hangulatzavarok és a szerhasználat közötti magas komorbiditás genetikai tényezőkkel, valamint a mindkét zavarban egyaránt megjelenő, genetikailag predisponált személyiségvonásokkal magyarázható (Kendler et al., 1993).

A növekedési faktorok depresszióval, szorongással kapcsolatos kutatásaiban eddig a BDNF genetikai variánsai kaptak nagyobb hangsúlyt (Faludi et al., 2012). Egy összefoglaló tanulmány tárgyalja a „BDNF hipotézist” (Krishnan és Nestler, 2008), miszerint a limbikus rendszerben kifejeződő BDNF mennyisége stressz hatására csökken, antidepresszívumok hatására viszont nő. Ezt az elképzelést az állatmodellek is alátámasztják: a hippokampuszba injektált BDNF antidepresszáns hatásokat mutatott. Ehhez hasonló tanulmányok, állat-, és humán modellek lennének szükségesek ahhoz, hogy megerősítsék az itt bemutatott összefüggést a GDNF és a hangulatzavarok között.

#### Rövidítésjegyzék

BP	bipoláris depresszió
MDD	major depresszió
GDNF	glia-eredetű növekedési faktor
HADS	Hospital Anxiety and Depression Scale
SNP	egypontos nukleotid polimorfizmus (single nucleotid polymorphism)
ADHD	figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar (attention deficit hyperactivity disorder)
3' UTR	3' nem-átíródó vége (3' untranslated region)
BDNF	agyi eredetű növekedési faktort (brain-derived neurotrophic factor)

**Köszönetnyilvánítás:** A kutatás támogatói: OTKA K100845, OTKA CK 80289, és az Aktív Pszichológia Alapítvány.

**Levelező szerző:** Kótyuk Eszter, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Pedagógiai és Pszichológiai Kar, Pszichológiai Intézet, Affektív Pszichológia Tanszék, 1064 Budapest, Izabella u. 46. I. emelet 112. Tel.: 461-2600/5690 vagy 461-2691 e-mail: kotyuszter@gmail.com

#### IRODALOM

- Argyelan, M., Szabo, Z., Kanyo, B., Tanacs, A., Kovacs, Z., Janka, Z., Pavics, L. (2005) Dopamine transporter availability in medication free and in bupropion treated depression: a 99mTc-TRODAT-1 SPECT study. *J Affect Disord*, 89:115-23.
- Bagdy, G., Juhasz, G., Gonda, X. (2012) A new clinical evidence-based gene-environment interaction model of depression. *Neuropsychopharmacol Hung*, 14:213-20.
- Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Sousa, L. P., Abreu, M. N., Rocha, N. P., Bauer, M. E., Carvalho, L. A., Teixeira, A. L. (2011) Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. *Neurosci Lett*, 502:103-6.
- Bjelland, I., Dahl, A. A., Haug, T. T., Neckelmann, D. (2002) The validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale. An updated literature review. *J Psychosom Res*, 52:69-77.
- Breslau, N. (1995) Psychiatric comorbidity of smoking and nicotine dependence. *Behav Genet*, 25:95-101.
- Compton, W. M., 3rd, Cottler, L. B., Jacobs, J. L., Ben-Abdallah, A., Spitznagel, E. L. (2003) The role of psychiatric disorders in predicting drug dependence treatment outcomes. *Am J Psychiatry*, 160:890-5.
- Conway, K. P., Compton, W., Stinson, F. S., Grant, B. F. (2006) Lifetime comorbidity of DSM-IV mood and anxiety disorders and specific drug use disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *J Clin Psychiatry*, 67:247-57.
- Cuellar, A. K., Johnson, S. L., Winters, R. (2005) Distinctions between bipolar and unipolar depression. *Clin Psychol Rev*, 25:307-39.
- Diniz, B. S., Teixeira, A. L., Miranda, A. S., Talib, L. L., Gattaz, W. F., Forlenza, O. V. (2012) Circulating Glial-derived neurotrophic factor is reduced in late-life depression. *J Psychiatr Res*, 46:135-9.
- Du, L., Faludi, G., Palkovits, M., Sotonyi, P., Bakish, D., Hrdina, P. D. (2002) High activity-related allele of MAO-A gene associated with depressed suicide in males. *Neuroreport*, 13:1195-8.
- Faludi, G., Gonda, X., Bagdy, G., Dome, P. (2012) Pharmacological and therapygenetic aspects in the treatment of anxiety disorders beyond the serotonergic system: a brief review. *Neuropsychopharmacol Hung*, 14:221-9.
- Farrell, M., Howes, S., Bebbington, P., Brugha, T., Jenkins, R., Lewis, G., Marsden, J., Taylor, C., Meltzer, H. (2001) Nicotine, alcohol and drug dependence and psychiatric comorbidity. Results of a national household survey. *Br J Psychiatry*, 179:432-7.
- Gill, S. S., Patel, N. K., Hotton, G. R., O'Sullivan, K., McCarter, R., Bunnage, M., Brooks, D. J., Svendsen, C. N., Heywood, P. (2003) Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med*, 9:589-95.
- Granhölm, A. C., Reyland, M., Albeck, D., Sanders, L., Gerhardt, G., Hoernig, G., Shen, L., Westphal, H., Hoffer, B. (2000) Glial cell line-derived neurotrophic factor is essential for postnatal survival of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci*, 20:3182-90.
- Grant, B. F. (1995) Comorbidity between DSM-IV drug use disorders and major depression: results of a national survey of adults. *J Subst Abuse*, 7:481-97.
- Greenwood, T. A., Alexander, M., Keck, P. E., McElroy, S., Sadovnick, A. D., Remick, R. A., Kelsoe, J. R. (2001) Evidence for linkage disequilibrium between the dopamine transporter and bipolar disorder. *Am J Med Genet*, 105:145-51.
- Helzer, J. E., Pryzbeck, T. R. (1988) The co-occurrence of alcoholism with other psychiatric disorders in the general population and its impact on treatment. *J Stud Alcohol*, 49:219-24.



18. Herrmann, C. (1997) International experiences with the Hospital Anxiety and Depression Scale--a review of validation data and clinical results. *J Psychosom Res*, 42:17-41.
19. Hunnerkopf, R., Strobel, A., Gutknecht, L., Brocke, B., Lesch, K. P. (2007) Interaction between BDNF Val66Met and dopamine transporter gene variation influences anxiety-related traits. *Neuropsychopharmacology*, 32:2552-60.
20. Kelsoe, J. R. (2003) Arguments for the genetic basis of the bipolar spectrum. *J Affect Disord*, 73:183-97.
21. Kendler, K. S., Neale, M. C., MacLean, C. J., Heath, A. C., Eaves, L. J., Kessler, R. C. (1993) Smoking and major depression. A causal analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 50:36-43.
22. Khantzian, E. J. (1985) The self-medication hypothesis of addictive disorders: focus on heroin and cocaine dependence. *Am J Psychiatry*, 142:1259-64.
23. Kotyuk, E., Keszer, G., Nemeth, N., Ronai, Z., Sasvari-Szekely, M., Szekely, A. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) as a novel candidate gene of anxiety. *Manuscript submitted*.
24. Kotyuk, E., Kovacs-Nagy, R., Faludi, G., Urban, R., Ronai, Z., Sasvari-Szekely, M., Szekely, A. (2009) [Association between nicotine dependence and the -521 promoter polymorphism of the dopamine D4 receptor in patients with major depression]. *Neuropsychopharmacol Hung*, 11:59-67.
25. Kozicz, T., Tilburg-Ouwens, D., Faludi, G., Palkovits, M., Roubos, E. (2008) Gender-related urocortin 1 and brain-derived neurotrophic factor expression in the adult human midbrain of suicide victims with major depression. *Neuroscience*, 152:1015-23.
26. Krishnan, V., Nestler, E. J. (2008) The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455:894-902.
27. Laurin, N., Lee, J., Ickowicz, A., Pathare, T., Malone, M., Tannock, R., Kennedy, J. L., Schachar, R. J., Barr, C. L. (2008) Association study for genes at chromosome 5p13-q11 in attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 147B:600-5.
28. Lee, K., Kunugi, H., Nanko, S. (2001) Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gene and schizophrenia: polymorphism screening and association analysis. *Psychiatry Res*, 104:11-7.
29. Lopez Leon, S., Croes, E. A., Seyed-Tabatabaei, F. A., Claes, S., Van Broeckhoven, C., van Duijn, C. M. (2005) The dopamine D4 receptor gene 48-base-pair-repeat polymorphism and mood disorders: a meta-analysis. *Biol Psychiatry*, 57:999-1003.
30. Loria, M. J., White, S. W., Robbins, S. A., Salmeto, A. L., Hymel, K. A., Murthy, S. N., Manda, P., Sufka, K. J. (2013) Brain-derived neurotrophic factor response in vulnerable and resilient genetic lines in the chick anxiety-depression model. *Behav Brain Res*, in press.
31. Markou, A., Kosten, T. R., Koob, G. F. (1998) Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology*, 18:135-74.
32. Michel, T. M., Frangou, S., Camara, S., Thieme, D., Jecel, J., Tatschner, T., Zochling, R., Grunblatt, E. (2008) Altered glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) concentrations in the brain of patients with depressive disorder: a comparative post-mortem study. *Eur Psychiatry*, 23:413-20.
33. Michelato, A., Bonvicini, C., Ventriglia, M., Scassellati, C., Randazzo, R., Bignotti, S., Beneduce, R., Riva, M. A., Gennarelli, M. (2004) 3' UTR (AGG)<sub>n</sub> repeat of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gene polymorphism in schizophrenia. *Neurosci Lett*, 357:235-7.
34. Mueller, T. I., Lavori, P. W., Keller, M. B., Swartz, A., Warshaw, M., Hasin, D., Coryell, W., Endicott, J., Rice, J., Akiskal, H. (1994) Prognostic effect of the variable course of alcoholism on the 10-year course of depression. *Am J Psychiatry*, 151:701-6.
35. Muszbek, K., Szekely, A., Balogh, E. M., Molnar, M., Rohanszky, M., Ruzsa, A., Varga, K., Szollosi, M., Vadasz, P. (2006) Validation of the Hungarian translation of Hospital Anxiety and Depression Scale. *Qual Life Res*, 15:761-6.
36. Nitta, A., Nishioka, H., Fukumitsu, H., Furukawa, Y., Sugiura, H., Shen, L., Furukawa, S. (2004) Hydrophobic dipeptide Leu-Ile protects against neuronal death by inducing brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor synthesis. *J Neurosci Res*, 78:250-8.
37. Nutt, J. G., Burchiel, K. J., Comella, C. L., Jankovic, J., Lang, A. E., Laws, E. R., Jr., Lozano, A. M., Penn, R. D., Simpson, R. K., Jr., Stacy, M., Wooten, G. F., factor, I. G. S. G. I. i. G. c. l.-d. n. (2003) Randomized, double-blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in PD. *Neurology*, 60:69-73.
38. Otsuki, K., Uchida, S., Watanuki, T., Wakabayashi, Y., Fujimoto, M., Matsubara, T., Funato, H., Watanabe, Y. (2008) Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiatr Res*, 42:1145-53.
39. Patel, N. K., Gill, S. S. (2007) GDNF delivery for Parkinson's disease. *Acta Neurochir Suppl*, 97:135-54.
40. Rosa, A. R., Frey, B. N., Andreazza, A. C., Cereser, K. M., Cunha, A. B., Quevedo, J., Santin, A., Gottfried, C., Goncalves, C. A., Vieta, E., Kapczinski, F. (2006) Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunoreactivity during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder. *Neurosci Lett*, 407:146-50.
41. Ruhe, H. G., Mason, N. S., Schene, A. H. (2007) Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry*, 12:331-59.
42. Serretti, A., Lilli, R., Lorenzi, C., Lattuada, E., Smeraldi, E. (2001) DRD4 exon 3 variants associated with delusional symptomatology in major psychoses: a study on 2,011 affected subjects. *Am J Med Genet*, 105:283-90.
43. Sklar, P., Gabriel, S. B., McInnis, M. G., Bennett, P., Lim, Y., Tsan, G., Schaffner, S., Kirov, G., Jones, I., Owen, M., Craddock, N., DePaulo, J. R., Lander, E. S. (2002) Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder: BDNF is a potential risk locus. *Brain-derived neurotrophic factor. Mol Psychiatry*, 7:579-93.
44. Stevenson, J. R., Schroeder, J. P., Nixon, K., Besheer, J., Crews, F. T., Hodge, C. W. (2009) Abstinence following alcohol drinking produces depression-like behavior and reduced hippocampal neurogenesis in mice. *Neuropsychopharmacology*, 34:1209-22.
45. Strauss, J., Barr, C. L., George, C. J., Devlin, B., Vetro, A., Kiss, E., Bajji, L., King, N., Shaikh, S., Lanktree, M., Kovacs, M., Kennedy, J. L. (2005) Brain-derived neurotrophic factor variants are associated with childhood-onset mood disorder: confirmation in a Hungarian sample. *Mol Psychiatry*, 10:861-7.
46. Syed, Z., Dudbridge, F., Kent, L. (2007) An investigation of the neurotrophic factor genes GDNF, NGF, and NT3 in susceptibility to ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B:375-8.
47. Torzsa, P., Rihmer, Z., Gonda, X., Sebestyén, B., Szokontor, N., Kalabay, L. (2008) [Prevalence of major depression in primary care practices in Hungary]. *Neuropsychopharmacol Hung*, 10:265-70.
48. Wang, X., Hou, Z., Yuan, Y., Hou, G., Liu, Y., Li, H., Zhang, Z. (2011) Association study between plasma GDNF and cognitive function in late-onset depression. *J Affect Disord*, 132:418-21.
49. Williams, H. J., Norton, N., Peirce, T., Dwyer, S., Williams, N. M., Moskvina, V., Owen, M. J., O'Donovan, M. C. (2007) Association analysis of the glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gene in schizophrenia. *Schizophr Res*, 97:271-6.

50. Yasuhara, T., Shingo, T., Date, I. (2007) Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) therapy for Parkinson's disease. *Acta Med Okayama*, 61:51-6.
51. Yoshimura, T., Usui, H., Takahashi, N., Yoshimi, A., Saito, S., Aleksic, B., Ujike, H., Inada, T., Yamada, M., Uchimura, N., Iwata, N., Sora, I., Iyo, M., Ozaki, N. (2011) Association analysis of the GDNF gene with methamphetamine use disorder in a Japanese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 35:1268-72.
52. Zigmond, A. S., Snaith, R. P. (1983) The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*, 67:361-70.

## Association between mood characteristics and polymorphisms of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in patients with depression

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) plays an important role in the development and synaptic plasticity of dopaminergic neurons, thus it could be an important therapeutic factor in Parkinson's disease. Results from candidate gene studies of GDNF in psychiatric disorders are contradictory. Moreover, the possible association between GDNF polymorphisms and major- or bipolar depression has not been studied to date. Recently, our research group has published an association between two GDNF polymorphisms (rs3812047, rs3096140) and the individual variability of anxiety measured by the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) on a non-clinical sample. In the present study we further analyzed this association on a sample with major- and bipolar depression: we used data from 183 MDD, 116 BP, and 1172 control subjects and tested effect of GDNF rs3812047 and rs3096140 polymorphisms on mood disorders. The case control design did not show significant differences in the genotype distribution of BP or MDD versus control patients. However, in the bipolar group subjects with rs3812047 A allele showed a significantly higher anxiety and depression mean score than subjects with G allele ( $p=0.043$ ). This result supports our previous findings demonstrated on a non-clinical sample. Interestingly we found an opposite effect of the rs3812047 using data from MDD patients: subjects with the G allele had higher depression scores ( $p=0.012$ ). An interaction effect of patient subgroups and genetic variants of the rs3812047 was observed for both HADS subscales (anxiety:  $p=0.029$ ; depression: 0.004). In summary, we confirmed the previously published association between the rs3812047 A allele and mood characteristics on the bipolar sample, and an effect in the opposite direction was detected in the patient group with major depression.

**Keywords:** glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), rs3812047, rs3096140, bipolar depression, major depression, Hospital Anxiety and Depression Scale