Bachelor scriptie

siRNA als therapie voor klinische depressie

Maart 2018

Auteur: A.M.P. Ebskamp S2741563

Begeleider: dr. Ing. J.D.A. Olivier

Afdeling Neurobiologie,

Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences (GELIFES),

Rijksuniversiteit Groningen

Samenvatting

Klinische depressie is een psychische aandoening met een zeer hoge prevalentie in de algemene bevolking. In Nederland krijgt bijna 20 procent van de volwassenen een keer een depressie. Serotonine (5-HT) speelt een grote rol bij de behandeling van ernstige depressies, met selectieve serotonine heropname remmers (SSRIs) als de meest voorkomende farmacologische therapie voor klinische depressie. Desondanks hebben SSRIs een lage werkzaamheid en moeten 6 tot 8 weken gebruikt worden voordat er een therapeutisch effect merkbaar is. Een acute werking is een manier om de werkzaamheid van SSRIs te verbeteren. Deze acute werking zou geïnduceerd kunnen worden door gebruik te maken van siRNA. In deze scriptie zal verder worden ingegaan op het gebruik van siRNA op het mRNA van SERT en 5-HT1A, met als hoofdvraag: Zou siRNA gebruikt kunnen worden als (acute)therapie voor klinische depressie?

SLC6A4, HTR1A, HTR2A en MAOA zijn genen die deel uitmaken van het serotonerge systeem. Variaties van deze genen in combinatie met stressvolle gebeurtenissen uit het verleden kunnen leiden tot een verhoogde vatbaarheid voor depressie. Gezien het feit dat deze patiënten minder goed reageren op reguliere antidepressiva, zou therapie met siRNA juist voor hen een uitkomst kunnen zijn. Vanwege de bloed-hersen barrière is het erg lastig om siRNA naar de gewenste neuronen in het brein te krijgen. Een van de opties is het maken van geconjugeerde siRNA moleculen (C-siRNA). Bij dit C-siRNA is de siRNA sequentie covalent gebonden aan een SSRI, zodat het bij de gewenste serotonerge neuronen komt in het brein. De toepassingen van C-siRNA lieten zien dat er een acute antidepressieve werking was van C-1A-siRNA en C-SERT-siRNA. Dit in tegenstelling tot reguliere SSRIs die er minimaal een maand over doen om dezelfde effecten te bewerkstelligen. Dit impliceert dat C-siRNA potentieel gebruikt zou kunnen worden als acute therapie voor depressie. C-siRNA moleculen kunnen intranasaal worden ingebracht, wat een gebruiksvriendelijke en effectieve methode zou kunnen zijn in verdere klinische studies. Kortom, intranasale toediening van C-1A-siRNA en C-SERT-siRNA zou een mogelijke verbetering kunnen zijn op de reguliere antidepressiva door de acute werking, mede veroorzaakt door de acute desensitisatie van 5-HT1A -autoreceptoren. Hiernaast zou er nog meer onderzoek gedaan kunnen worden naar de acute antidepressieve werking van C-siRNA op andere serotonerge, noradrenerge en dopaminerge receptoren.

Inhoudsopgave

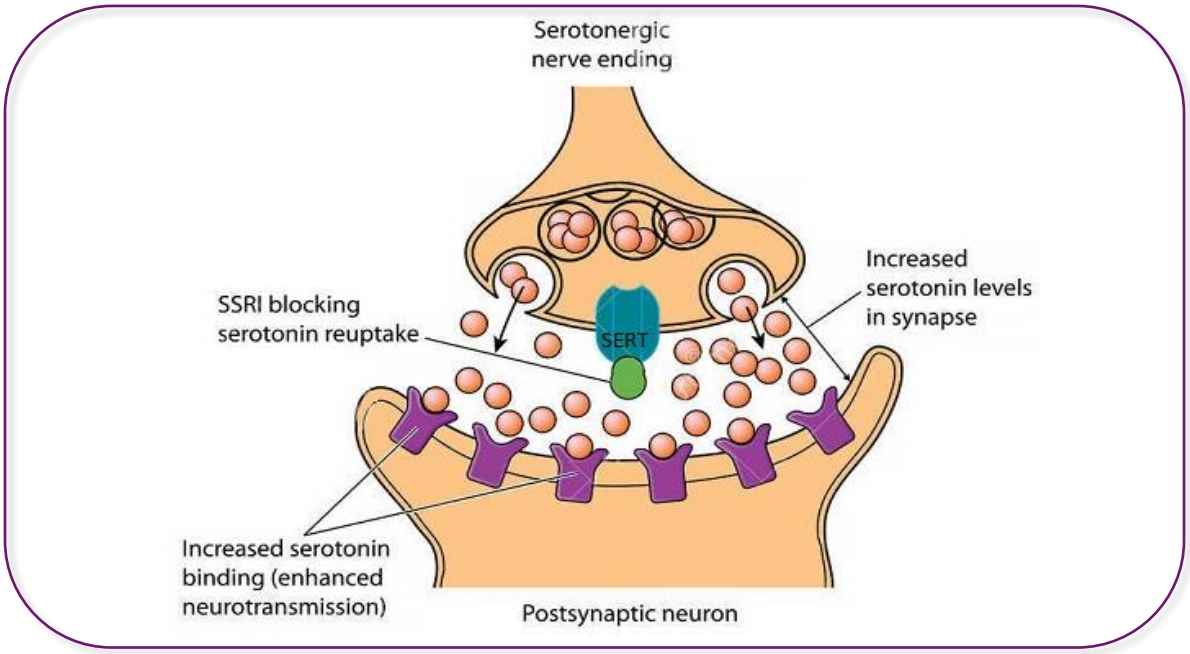
Introductie 3
Het biologische mechanisme van depressie 5
Symptomen en diagnose 5
Pathofysiologie 6
Genetische achtergrond 10
De werking van siRNA en miRNA 14
klinische toepassing van siRNA 15
siRNA als therapie voor depressie 17
Conclusie en discussie 19
Literatuurlijst 20

Introductie

Klinische depressie is een psychische aandoening met een zeer hoge prevalentie in de algemene bevolking. In Nederland krijgt bijna 20 procent van de volwassenen een keer een depressie ("Trimbos-instituut | Depressie: feiten en cijfers", 2017). Vanwege de hoge prevalentie en de lange actieve periodes van depressieve episodes in het adulte leven, resulteert depressie ook in hoge arbeidskosten. Ondanks de hoge prevalentie en de aanzienlijke sociaaleconomische gevolgen, zijn de patho-fysiologische mechanismen nog niet exact bekend (Kessler et al, 2005; Krishnan et al, 2008).

Serotonine (5-HT) speelt een grote rol bij de behandeling van ernstige depressies, met selectieve serotonine heropname remmers (SSRIs) als de meest voorkomende farmacologische therapie voor klinische depressie. Desalniettemin hebben SSRIs een lage werkzaamheid, en moeten zij voor een langere tijd toegediend worden voordat klinische verbeteringen duidelijk worden. SSRIs reduceren slechts de depressieve symptomen bij een derde van de patiënten. Dit resulteert in een hoog percentage patiënten die niet of gedeeltelijk reageren op de therapie en een slechtere levenskwaliteit hebben. In het ernstigste geval verhoogt dit de kans op zelfmoord (Wong et al, 2001; Rush et al, 2006).

Ondanks dat SSRIs niet perfect werken, is het momenteel wel het beste antidepressivum dat er voorhanden is. De serotonine transporter (SERT) reguleert de actieve fractie van 5-HT, door de heropname van 5-HT te stimuleren vanaf de synapsspleet terug naar het pre-synaptische neuron (fig. 1). In het brein is SERT gelokaliseerd in de dendrieten en axon-uiteinden van de nuclei raphe neuronen (Pickel et al, 1999). SERT-blokkade door SSRIs voorkomt dat er heropname van 5-HT plaatsvindt wat leidt tot een verhoging van 5-HT in de synaps-spleet. Deze verhoging van 5-HT zal uiteindelijk leiden tot klinische verbeteringen. Vaak moeten SSRIs 6 tot 8 weken gebruikt worden voordat er desensitisatie optreedt van presynaptische 5-HT1A -autoreceptoren, en er een therapeutisch effect merkbaar is (Gibbons et al, 2012). Tevens zorgt langer termijn behandeling met SSRIs voor een verlaging van SERT-expressie op het celoppervlak van 5-HT-neuronen, zonder de SERT-mRNA expressie te beïnvloeden (Baudry et al, 2010; Lau et al, 2008; Benmansour etal, 2002). SERT down-regulatie zou de 5-HT neurotransmissie in het voorbrein kunnen verhogen, wat bijdraagt aan het therapeutische effect van SSRIs (Frazer et al, 2002; Zhao et al, 2009).



Figuur 1. SERT-blokkade door SSRIs voorkomt heropname van 5-HT, wat leidt tot een verhoging van 5-HT in de synapsspleet. Dit leidt tot een verhoogde neurotransmissie. Aangepast van Rang et al (2001).

Doordat SSRIs vaak 6 tot 8 weken gebruikt moeten worden voordat er een therapeutisch effect merkbaar is, zou een acute werking een manier kunnen zijn om de werkzaamheid van SSRIs te verbeteren. Deze acute werking zou geïnduceerd kunnen worden door gebruik te maken van siRNA. siRNA, ook wel small interfering RNA genoemd, is een dubbelstrengs RNA molecuul van circa 20 tot 25 baseparen in lengte. Het grijpt in op de expressie van specifieke genen met complementaire nucleotide sequenties, door het degraderen van mRNA na transcriptie (Agrawal et al, 2003). Zo voorkomt siRNA de translatie van dat gen. Door middel van siRNA kan de mRNA expressie van SERT verminderd worden, waarna er een vermindering van SERT plaatsvindt op het membraan van het presynaptisch neuron (Thakker et al, 2005). Deze vermindering van SERT zou weer een antidepressieve werking kunnen hebben. Naast de toepassing van siRNA op SERT, zou siRNA ook toegepast kunnen worden op het mRNA van andere serotonerge receptoren, zoals post-synaptisch 5-HT2A, 5-HT2C receptoren, en de presynaptische 5-HT1A receptor. Door siRNA toe te passen op presynaptische 5-HT1A receptoren, zou er een acute desensitisatie van 5-HT1A -autoreceptoren geïnitieerd kunnen worden, wat de werkzaamheid van SSRIs verbetert (Bortolozzi et al, 2012).

In deze scriptie zal verder worden ingegaan op het gebruik van siRNA op het mRNA van SERT en 5-HT1A, met als hoofdvraag: Zou siRNA gebruikt kunnen worden als (acute)therapie voor klinische depressie? Het effect van siRNA op andere serotonerge receptoren is vooralsnog onbesproken in de literatuur, vandaar dat er in deze scriptie voornamelijk wordt ingegaan op de invloed van siRNA op SERT en 5-HT1A.

Het biologische mechanisme van depressie

Vanwege de breedte van het onderwerp 'depressie' zal er in deze scriptie slechts het deel afgebakend worden dat relevant is voor de verdere toepassing van siRNA. Hiervoor is het van belang om ten eerste te weten wat depressie precies inhoud en wat de symptomen zijn. Daarnaast is het belangrijk om te weten welke neurotransmitters, receptoren en genen te maken hebben bij depressie.

Symptomen en diagnose

De diagnose van klinische depressie wordt gemaakt op basis van een zorgvuldig klinisch interview en een onderzoek van de geestelijke toestand waarin iemand zich verkeerd. De criteria in de "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders" (DSM-5), worden over het algemeen beschouwd als de standaard diagnostische benadering. Echter, op basis van de medische achtergrond en een fysiek onderzoek zou het mogelijk zijn dat de patiënt een andere psychische aandoening heeft zoals; obsessieve-compulsieve stoornis, paniekstoornis, boulimia nervosa, of dementie. Een andere algemene medische aandoening zou ook ten grondslag kunnen liggen aan dezelfde symptomen, of door gebruik/misbruik van medicatie. Vandaar dat naast de symptomen, factoren zoals medische achtergrond en fysieke toestand een zeer belangrijke rol spelen bij de diagnose van klinische depressie (Goldman et al, 1999).

Symptomen

Een depressie wordt gekenmerkt door een terneergeslagen stemming van ten minste twee weken lang. Daarbij moet iemand last hebben van 1) een gedeprimeerde stemming gedurende het grootste deel van de dag of 2) Een daling van belangstelling in activiteiten die de persoon voorheen als plezierig ervaarde. Daarnaast moet iemand aan ten minste 5 van de onderstaande symptomen voldoen:

1) Een gedeprimeerde stemming gedurende het grootste deel van de dag.
2) Een daling van belangstelling in activiteiten die de persoon voorheen als plezierig ervaarde.
3) Een veranderde eetlust, met daarbij een gewichtstoename of afname.
4) Constant minder energie of erge vermoeidheid.
5) Minder capabel zijn om beslissingen te nemen of zich te kunnen concentreren.
6) Een verstoord slaappatroon, waarbij er veel meer of minder geslapen wordt dan normaal.
7) Gevoelens van nutteloosheid, schuld, vrees of hulpeloosheid.
8) Rusteloosheid, of juist minder actief zijn dan normaal.
9) Suïcidale gedachtes (American Psychiatric Association, 2013).

Bij klinische depressie veroorzaken de symptomen significante stress of beperkingen in sociale, beroepsmatige of andere belangrijke gebieden van functioneren. De periode waarin zich deze depressieve symptomen voordoen, wordt een depressieve episode genoemd. De episode mag niet toe te schrijven zijn aan de fysiologische effecten van een stof of een andere medische aandoening. Deze criteria tezamen representeren de symptomen van een klinische depressie. We spreken van een recidiverende depressieve stoornis als deze episoden vaker terugkeren. (American Psychiatric Association, 2013)

Het ontstaan van een depressie kan door veel omstandigheden beïnvloed worden. Lichamelijke klachten, persoonlijkheidsproblematiek, of ingrijpende gebeurtenissen in het leven of tijdens de kindertijd kunnen allemaal een rol spelen (Chapman et al, 2004). Daarnaast zou er ook een genetische factor kunnen zijn die bijdraagt aan de vatbaarheid van depressie, wat later in dit hoofdstuk besproken zal worden.

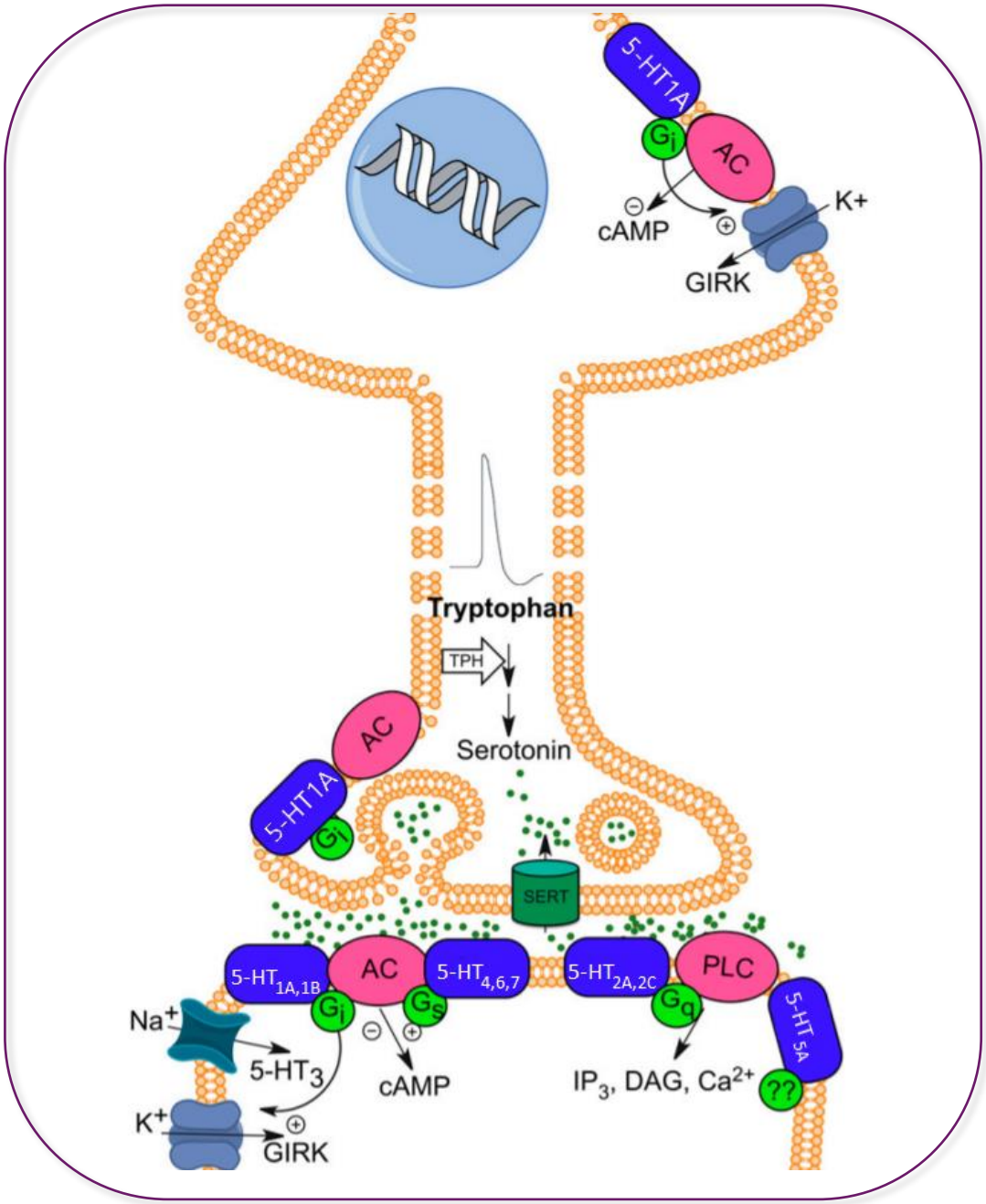
Pathofysiologie

De neuropathologie van depressie is zeer complex en nog niet goed begrepen. De meest geaccepteerde theorie is dat genetische variaties de normale functies van neurotransmitters beïnvloeden waarbij de hoeveelheid serotonine, noradrenaline en dopamine verlaagd is (Delgado & Kahn, 2002). Naast genen die de expressie van serotonine reguleren, is er ook veel onderzoek gedaan naar apolipoproteine E (APOE) genotypen en monoamine oxidase A (MAO-A) genotypen in verband met depressie (Murphy et al, 2003). APOE is een vetbindend eiwit dat te maken heeft met het vetmetabolisme in het lichaam (Mahley RW, 1988). MAO-A bevindt zich in het buitenste mitochondriale membraan van zowel zenuw- als niet-zenuwcellen, en komt voornamelijk voor in het brein (25%). MAO-A heeft als co-enzym flavine-adenine-dinucleotide (FAD), zonder dit co-enzym kan de enzymatische reactie niet plaatsvinden. MAO-A zorgt voornamelijk voor de afbraak van serotonine, noradrenaline en dopamine (Chen et al, 1991). In deze scriptie zal er voornamelijk worden ingegaan op het serotonerge systeem dat invloed zou kunnen hebben op de pathofysiologie van depressie.

Tryptofaan is de enige precursor van het perifeer en centraal geproduceerde 5-HT (Richard et al, 2009). Tryptofaan zal eerst over de bloed-hersen barrière heen moeten komen om zo toegang te krijgen tot het centrale zenuw stelsel. Eenmaal in het centrale zenuwstelsel, wordt tryptofaan in de raphe neuronen omgezet in 5-HT door tryptofaan hydroxylase (TPH) (Jenkins et al, 2016). 5-HT kan binden aan vele sub-receptoren die ieder een net iets andere werking hebben. Ter verduidelijking zijn er in figuur 2 een aantal verschillende sub-receptoren van 5-HT te zien. Pre-synaptisch zorgt SERT voor de heropname van 5-HT (Hanley NR & Van de Kar LD, 2003). Daarnaast zijn er presynaptische 5-HT1A-autoreceptoren in de raphe nuclei die de serotonine afgifte verminderen in de voorhersenen door middel van negatieve feedback (Artigas et al, 1996; Blier P & de Montigny C, 1994; Piñeyro G & Blier P, 1999). De meeste post-synaptische 5-HT receptoren zijn G-eiwit gekoppelde receptoren (GPCRs). De 5-HT3 receptor is een uitzondering gezien het een ionotrope receptor is (Lummis SC, 2012).

Zo is in figuur 2 tevens te zien dat sommige 5-HT sub-receptoren een andere intra-cellulaire route hebben, en dus ook een ander effect uitoefenen;
1) De 5-HT1- en 5-HT5 receptoren zorgen voornamelijk voor inhibitie van proteïne kinase A (PKA), en activatie van G-eiwit gekoppelde inwaarts rectificerende kalium kanalen (GIRK), wat een cellulair respons inhibeert.
2) 5-HT2 receptoren zorgen voor een verhoging van het intracellulaire calcium niveau (Ca^{2+}), en een activatie van proteïne kinase C (PKC), wat leidt tot een cellulair respons.
3) 5-HT3 receptoren zijn ionotrope receptoren; activatie van deze receptoren leidt tot Natrium (Na^{+}) influx dat zorgt voor depolarisatie.
4) 5-HT4, 5-HT6 en 5-HT7 receptoren zorgen voor activatie van PKA wat leidt tot een cellulair respons (Polter and Li, 2011).

Door meerdere studies wordt er gesuggereerd dat voornamelijk 5-HT1A, 5-HT2A, en 5-HT2C invloed hebben op angst en de gemoedstoestand (Toth, 2003; Van Oekelen et al, 2003; Mato et al, 2010). In de volgende alinea wordt hier verder op ingegaan.



Figuur 2. **Het serotonerge pre- en post-synaptische neuron. Tryptofaan wordt door tryptofaan hydroxylase (TPH) omgezet in serotonine. Pre-synaptisch zorgt SERT voor de heropname van 5-HT, en 5-HT1A- autoreceptoren reguleren de serotonine afgifte door middel van negatieve feedback op het neuron. De meeste post-synaptische 5-HT receptoren zijn G-eiwit gekoppelde receptoren (GPCRs). De sub-receptoren hebben verschillende functies:**
1) 5-HT1 en 5-HT5 receptoren inhiberen adenyl cyclase (AC), verminderen cyclisch AMP (cAMP), en inhiberen proteïne kinase A (PKA). Tevens activeren zij G-eiwit gekoppelde inwaarts rectificerende kalium kanalen (GIRK). Kalium = K+
2) 5-HT2 receptoren stimuleren fosfolipase C (PLC) waardoor diacylglycerol (DAG) en inositol trisfosfaat (IP3) ontstaan. IP3 zorgt voor een verhoging van het intracellulaire calcium niveau (Ca2+), en DAG zorgt samen met Ca2+ voor een activatie van proteïne kinase C (PKC) wat zorgt voor een cellulair rerspons.
3) 5-HT3 receptoren zijn ionotrope receptoren. Activatie van deze receptoren leidt tot Natrium (Na+) influx dat zorgt voor depolarisatie.
4) 5-HT4, 5-HT6 en 5-HT7 receptoren activeren AC, verhogen cAMP, en activeren PKA. Aangepast van Gray & Roth (2007).

Bij de neuropathologie van depressie zijn in het brein de 5-HT opname en synthese gereduceerd. Deze reductie van 5-HT is met name te zien in de frontale, temporale en cingulate cortex (Cannon et al, 2007; Ichimiya et al, 2002; Meyer et al, 2004). De frontale cortex heeft te maken met verschillende vaardigheden zoals; hogere cognitie, doelen stellen, plannen maken, geheugen en het uitvoeren van motorische volgordes (Yang & Raine, 2009). De temporale cortex gaat over het visuele geheugen, taalverwerking, en verwerking emoties (Smith K, 2007). Daarbij heeft de cingulate cortex, net zoals de temporale cortex ook weer te maken met verwerking van emoties, maar daarnaast ook nog pijn verwerking (Hadland et al, 2003). Een verstoring van de 5-HT balans in deze regio's kan daardoor leiden tot een veranderde verwerking van emoties (Stockmeier CA, 2003).

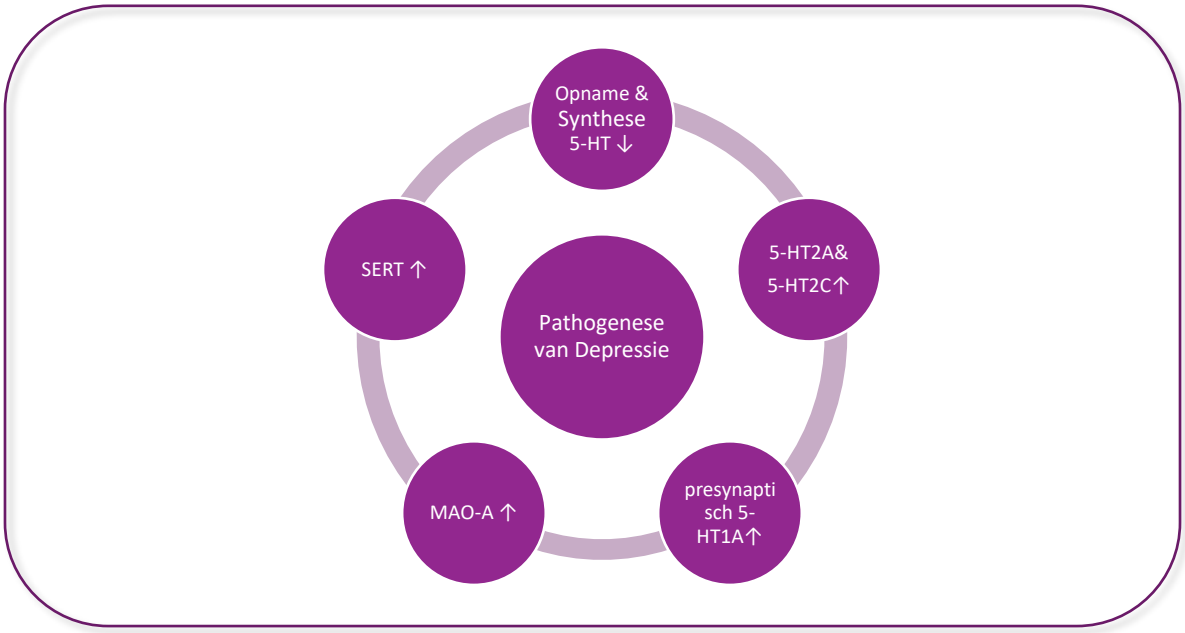
Hoewel de 5-HT opname en synthese in deze delen van het brein is gereduceerd, is de degradatie van 5-HT door monoamine oxidase A (MAO-A) verhoogt. MAO-A is hoogstwaarschijnlijk betrokken bij de pathofysiologie van depressie omdat het de afbraak van serotonine, noradrenaline, en dopamine reguleert in het brein (Shih et al, 1999). De hoeveelheid MAO-A in het brein kan gemeten worden door positronemissietomografie (PET). Bij depressieve patiënten is er een gemiddelde toename van MAO-A van 34% te zien (Meyer et al, 2006).

Naast de hoeveelheid MAO-A, blijkt de hoeveelheid SERT ook een invloed te hebben op de pathofysiologie van depressie. Zo blijkt de hoeveelheid SERT op het presynaptische membraan verhoogt waardoor er een verhoogde heropname van 5-HT plaatsvindt (Cannon et al, 2006; Cannon et al, 2007; Ichimiya et al, 2002; Meyer et al, 2004). Deze toename van SERT bij depressieve patiënten blijkt echter niet altijd het geval (Parsey et al, 2006; Reivich et al, 2004). Uit muizenstudies blijkt namelijk het tegenovergestelde. Veranderingen in het 5-HT niveau tijdens de vroege ontwikkeling in muizen blijkt consequenties te hebben op het gedrag dat zij later in het adulte leven vertonen (Ansorge et al, 2008, 2004). SERT heterozygoten (+/-) en SERT knock-out (-/-) muizen hebben hogere extracellulaire 5-HT concentraties dan de wildtype SERT (+/+) muizen (Fabre et al, 2000; Mathews et al, 2004; Shen et al, 2004). Zo vertonen SERT (-/-) muizen angstiger gedrag (Ansorge et al, 2004; Holmes et al, 2003; Kalueff et al, 2007), een verhoogde vatbaarheid voor stress (Li et al, 1999; Tjurmina et al, 2002; Wellman et al, 2007), en een depressief fenotype (Alexandre et al, 2006; Holmes et al, 2002; Popa et al, 2008; Wisor et al, 2003; Zhao et al, 2006). Hieruit blijkt dat verstoring van 5-HT niveaus tijdens de vroege ontwikkeling kan leiden tot een depressief fenotype in het latere leven.

Tot slot blijkt er bij depressieve patiënten een reductie te zijn van de post-synaptische 5-HT1A en 5-HT2 receptoren in de orbitofrontale cortex en de insula die verantwoordelijk zijn voor de verwerking en controle van emotionele prikkels (Seeley et al, 2007). Desalniettemin blijken individuen met een grotere hoeveelheid of activiteit van presynaptische 5-HT1A-autoreceptoren, vatbaarder voor stemmingsstoornissen te zijn en slechter te reageren op antidepressiva (Lemonde et al, 2003; Neff et al, 2009; Stockmeier et al, 1998). 5-HT1A-autoreceptor activatie in de raphe nuclei vermindert serotonerge activiteit en 5-HT-afgifte in de voorhersenen (Artigas et al, 1996; Blier P & de Montigny C, 1994; Piñeyro G & Blier P, 1999). Daarnaast wordt een verhoogde hoeveelheid 5-HT2A en 5-HT2C receptoren geassocieerd met depressieve klachten zoals een extreem pessimistische kijk op het leven en suïcidale gedachtes. De hoeveelheid van de 5-HT2A receptoren was positief gecorreleerd de mate van depressieve gedragingen bij deze patiënten (Meyer et al, 2001). Mensen die zelfmoord hadden gepleegd bleken een hoger aantal 5-HT2C receptoren in hun brein te hebben (Niswender et al 2001). Door deze waarneming kan er gesuggereerd worden dat over-expressie van 5-HT2A en 5-HT2C receptoren te maken heeft met de pathogenese van depressie.

Concluderend zal ervan worden uitgegaan dat de volgende factoren effect hebben op het induceren van depressie: 1) verlaagde opname en synthese van 5-HT. 2) toename van SERT. 3) Toename van 5-HT2A en 5-HT2C. 4) toename van presynaptische 5-HT1A-autoreceptoren. 5) Verhoogde afbraak van 5-HT door MAO-A (fig. 3).

Door deze sub-hypothese vast te stellen kan er gekeken worden naar de achterliggende genen van de betrokken eiwitten. Hierna kan er worden ingegaan op de mogelijke behandelmethodes met siRNA. Dit zal dan ook gebaseerd worden op deze aannames.



Figuur 3. Hypothese: Depressie kan geïnduceerd worden door 1) verlaagde opname en synthese van 5-HT. 2) toename van SERT. 3) Toename van 5-HT2A, 5-HT2C en 5-HT1A. 4) Verhoogde afbraak van 5-HT door MAO-A.

Genetische achtergrond

Naast dat omgevingsfactoren een grote rol spelen bij depressie, is er ook een genetische component. Kijkend naar familie en tweelingstudies is er te zien dat genetische factoren een rol spelen bij depressie. Zo blijkt dat er een verdubbeld tot verviervoudigd risico is voor het krijgen van depressie onder eerstegraads familieleden (Weissmann et al, 1993) en er een erfelijkheidsgraad van 37% is onder tweelingen (Sullivan et al, 2000). Hieruit is het te verwachten dat er genen betrokken zijn die invloed hebben op het krijgen van depressie. Helaas zijn deze genen lastiger te identificeren dan gedacht. De grootste belemmeringen voor het identificeren van deze genen komt door het feit dat geen enkel gen individueel verantwoordelijk is voor depressie, maar juist veel verschillende genen (Lohoff, 2010). Ondanks de belemmeringen is er veel onderzoek gedaan naar genen die eventueel betrokken zouden kunnen zijn bij depressie. Er zal hier alleen worden in gegaan op de genen en polymorfismen die te maken hebben met SERT en enkele andere genen en polymorfismen die betrokken zijn bij het serotonerge circuit.

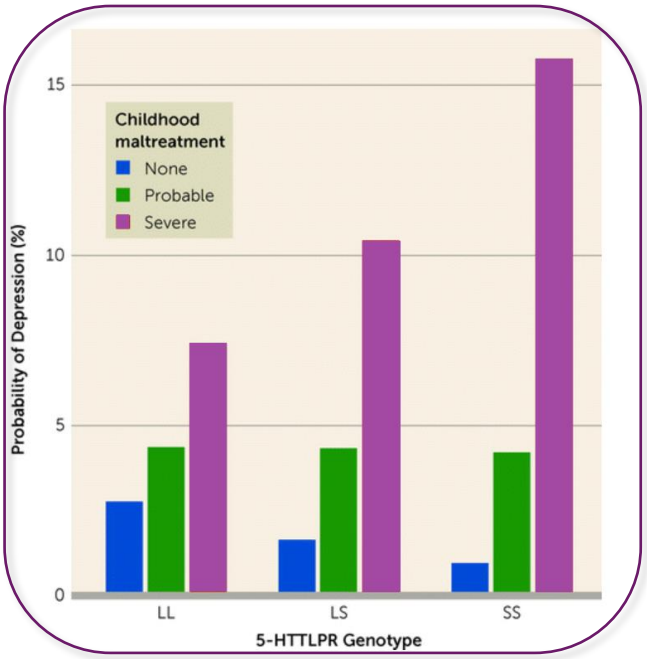
Invloed van 5-HTTLPR

Het gen dat codeert voor SERT is SLC6A4. De promotor regio van SLC6A4 bevat een polymorfisme met lange en korte herhalingen van nucleotiden. Bij een polymorfisme is er in een gen een nucleotide veranderd bij een groot percentage van de populatie waardoor het geen mutatie kan worden genoemd (Ames et al, 2002). Het polymorfisme van het gen SLC6A4, wordt ook wel 5-HTTLPR genoemd. Volgens Murphy et al (2008) en Wankerl et al (2014) zouden mensen met het korte allel 60% tot 70% lagere expressie van SERT mRNA hebben. Dit leidt tot lagere heropname van 5-HT en betere werkzaamheid van antidepressiva (kim et al 2000). In het artikel van Kim et al (2000) werd er gerapporteerd dat het homozygote korte allel van 5-HTTLPR (kort/kort) frequenter was in de mensen die goed op de behandeling met fluoxetine of paroxetine reageerden (64 vs 36%, P=0.007). Zo werd er ook gesuggereerd dat het korte allel recessief was. In de groep die niet op de behandeling reageerden zaten namelijk meer heterozygoten dan homozygoten (58 vs 32%). Deze bevindingen werden bevestigd door een andere studie van Yoshida et al (2002), waarin homozygoten voor het korte allel weer beter reageerden op fluvoxamine dan heterozygoten (69 vs 32%, P=0.01). Tevens was er weer een hogere frequentie van heterozygoten bij de participanten die niet reageerden op de behandeling (47 vs 31%), wat weer duidt op de recessiviteit van het korte allel.

Vergeleken met andere studies is er echter veel tegenspraak te vinden. Grootschalige studies over neuroticisme, een karaktereigenschap betrokken bij depressie, laten juist zien dat er geen verschil is tussen de lange en korte variant van 5-HTTLPR op het effect van antidepressiva (Sen et al, 2004; Terracciano et al, 2009). In de meeste gevallen wordt er zelfs het omgekeerde beweerd; Dat het korte allel juist zorgt voor een verminderde effectiviteit van antidepressiva (Arias 2003 et al; Benedetti et al, 1999; Benedetti et al, 2003; Hong et al, 2006; Perlis et al, 2003; Pollock et al, 2000; Rausch et al, 2002; Smeraldi et al, 1998; Zanardi et al, 2000; Zanardi et al, 2001). Uit andere studies over neuroticisme bleek er een verband te zijn tussen het korte allel en neuroticisme. Zo hadden mensen met neuroticisme vaker het korte allel (Schinka et al, 2004; Sen et al, 2004; Gonda et al, 2009; Munafò et al, 2009). Dit laat zien dat de korte variant van 5-HTTLPR juist vaker wordt gelinkt aan depressie.

De afwijkende uitkomsten tussen de verschillende studies kunnen verklaard worden door een aantal variabelen. De eerste variabele is de etniciteit van de proefpersonen. In de studies waar men een positieve correlatie vond tussen het korte allel en de werkzaamheid van antidepressiva, zijn alleen proefpersonen gebruikt van Aziatische afkomst (Reid IC & Wolf CR, 2009). In de Aziatische bevolking komt het korte allel meer voor dan in de westerse bevolking (57% vs 25%) (Smits et al, 2004). De tweede variabele is de manier waarop men de mate van effectiviteit beoordeeld heeft. Niet bij alle studies is er hetzelfde beoordeeld, of op hetzelfde moment gemeten. De laatste variabele is de mate van inclusie. Bij sommige studies zijn er alleen unipolaire proefpersonen gebruikt (Benedetti et al, 1999), andere ook bipolaire proefpersonen (Arias et al, 2003; Perlis et al, 2003), en in sommige gevallen ook beide (Zanardi et al, 2000).

Ondanks de contoversie omtrent dit onderwerp is er nog steeds een mogelijkheid dat de combinatie van jeugdtrauma en het korte allel van 5-HTTLPR een vergrote vatbaarheid voor depressie induceren (Caspi et al, 2003; Houwing et al, 2017). Zo bleek uit het onderzoek van Rocha et al (2015) dat mensen die het korte allel 5-HTTLPR kort/kort bezitten en vroeger een goede jeugd hadden, minder kans hebben op het krijgen van depressie vergeleken met mensen met het lange allel 5-HTTLPR lang/lang. De combinatie van het korte allel van 5-HTTLPR en jeugdtrauma correleert positief met de kans op het krijgen van depressie (fig. 4) (Rocha et al, 2015). Uit de meta-analyse van Culverhouse al (2017) bleek echter dat dit toch niet klopte. Uit twee eerdere meta-analyses van Risch et al (2009) en Munafò et al (2009) bleek 5-HTTLPR-variatie in combinatie met omgevingsfactoren ook niet gelinkt te zijn aan depressie. Ook hier is er dus controversie.

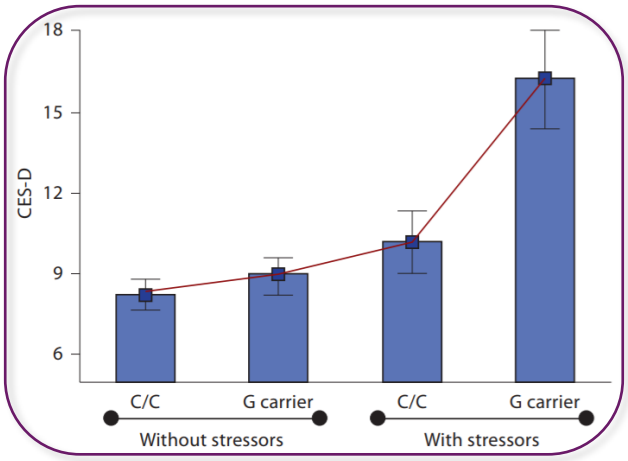


Figuur 4. Korte allel van 5-HTTLPR (SS) en de combinatie van jeugdtrauma correleert positief met de kans op het krijgen van depressie. LL = lang/lang, L/S = lang/kort. Aangepast van Rocha et al (2015).

Serotonine receptor 1A

Zoals eerdergenoemd bij de pathofysiologie blijken individuen met een grotere hoeveelheid of activiteit van presynaptische 5-HT1A-autoreceptoren vatbaarder voor stemmingsstoornissen te zijn en slecht op antidepressiva te reageren (Lemonde et al, 2003; Neff et al, 2009; Stockmeier et al, 1998). Dit zou komen doordat 5-HT1A-autoreceptor activatie in de raphe nuclei, de serotonerge activiteit en 5-HT-afgifte in de voorhersenen verminderd (Artigas et al, 1996; Blier P & de Montigny C, 1994; Piñeyro G & Blier P, 1999). Het gen dat verantwoordelijk is voor de transcriptie van 5-HT1A is HTR1A. In het HTR1A gen is net zoals bij SLC6A4 een regio met een polymorfisme gevonden. In een promotor sequentie is een variatie gevonden van een enkele nucleotide lang (SNP). Bij deze SNP is een cytosine vervangen door een guanine (–1019C/G; rs6295) (Wu S & Comings DE, 1999). Dit polymorfisme zou gelinkt zijn aan een verhoogt aantal presynaptische 5-HT1A-autoreceptoren. Naast 5-HTTLPR wordt dit polymorfisme ook gelinkt aan een verhoogde vatbaarheid voor depressie (Lemonde et al, 2003; Wu et al, 2008). Net zoals bij het onderzoek van 5-HTTLPR, zijn ook hier weer studies die deze bevinding tegenspreken (Illi et al, 2009; Hettema et al, 2008). Bij deze studies is er echter geen rekening gehouden met mogelijke omgevingsfactoren.

In een Chinese studie van Zhang et al (2009) werd er gekeken naar 5-HTTLPR, HTR1A en stressvolle levensgebeurtenissen. Hieruit bleek dat deze drie factoren bijdroegen aan de vatbaarheid voor depressie (Zhang et al, 2009). Ook uit de studie van Kim et al (2011) bleek het HTR1A C-1019G polymorfisme de vatbaarheid voor depressie te verhogen (fig. 5). Echter zijn er twee andere studies; namelijk een Italiaanse van Mandelli et al (2007) en een Sloveense van Videtic et al (2009) die het tegendeel bewijzen.



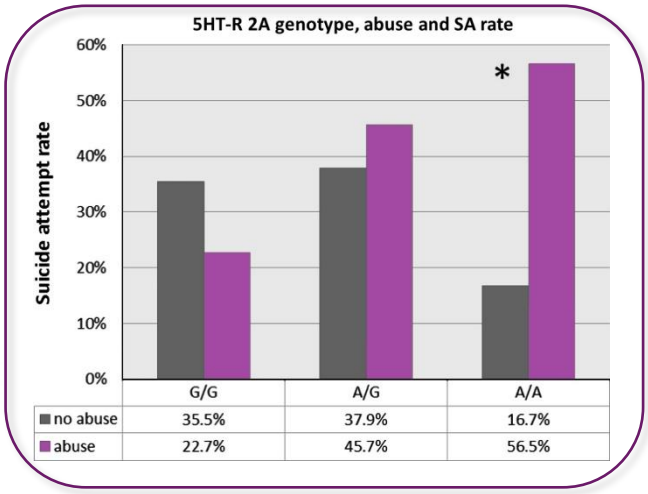
Figuur 5. Interactie tussen het C-1019G polymorfisme van het HTR1A gen en recente negatieve stressoren op CES-D scores (vergelijking van C/C en G dragers). Het HTR1A C-1019G polymorfisme verhoogt de vatbaarheid voor depressie. Herdrukt van Kim et al (2011).

De afwijkende uitkomsten tussen de verschillende studies kunnen verklaard worden door ongeveer dezelfde variabelen als hiervoor. Opnieuw laten de Aziatische studies van Zhang et al (2009) en Kim et al (2011) zien dat de mutatie, samen met stressvolle levensgebeurtenissen, leidt tot een verhoogde vatbaarheid voor depressie. Dit zou kunnen komen doordat minder Aziaten het polymorfisme bezitten; namelijk maar 8.5% in depressieve Chinese proefpersonen (Zhang et al, 2009), en 8.2% van de Koreanen uit de studie van Kim et al (2011) hadden het G/G-genotype. Dit in tegenstelling tot de Italianen en Slovenen waarin 28,2% van de proefpersonen het G/G genotype had. De meta-analyse van Kishi et al (2009) wees ook uit dat het HTR1A polymorfisme meer geassocieerd was met depressie in Aziatische patiënten dan westerse patiënten. Tot slot waren er ook bipolaire proefpersonen betrokken bij de studie van Mandelli et al (2007), en was de Sloveense studie van Videtic et al (2009) alleen gefocust op suïcidale slachtoffers.

Serotonine receptor 2A

Het gen dat verantwoordelijk is voor de transcriptie van 5-HT2A is HTR2A. De combinatie van allelen, zoals die samen voorkomen op een bepaald chromosoom wordt een haplotype genoemd. In de studie van Kishi et al (2010) is er een haplotype analyse van HTR2A toegepast om SSRI-respons te meten in depressieve patiënten. Uit de analyse kwamen drie veelvoorkomende haplotypes (rs6311- rs6313-rs1928040: A-T-T, G-C-T en G-C–C). Het G-C–C haplotype kwam zeer vaak voor in proefpersonen die goed op SSRIs reageerden. Vandaar dat er in deze studie geconcludeerd werd dat HTR2A een belangrijke rol zou kunnen spelen bij de pathofysiologie van depressieve patiënten en het respons op SSRIs. Het bleek echter wel dat het G-C-C haplotype van Japanners sterk afweek van westerlingen. Deze conclusie is vandaar meer van toepassing voor de Japanse bevolking (Kishi et al, 2010). Naast deze studie zijn er echter ook Westerse studies gedaan met betrekking tot HTR2A en depressie. In de studie van McMahon et al (2006) werd het (rs7997012) A-allel polymorfisme van HTR2A gelinkt aan een beter respons op de antidepressiva citalopram. Mensen met dit polymorfisme reageerden beter op citalopram dan G allel homozygoten. Veel controle studies bevestigden deze bewering (Andre et al, 2010; Horstmann et al, 2010; Lohoff et al, 2013; Lucae et al, 2010; Peters et al, 2009).

In de studie van Shinozaki et al (2013) is er gekeken naar de invloed van HTR2A en kindermishandeling op zelfmoordpogingen bij depressieve patiënten. In tegenstelling tot de studie van Kishi et al (2010), is deze studie uitgevoerd met Westerse proefpersonen. In deze studie werd er specifiek gekeken naar het (rs7997012) A-allel polymorfisme van HTR2A. Dit A-allel zou geassocieerd zijn met het risico op een zelfmoordpoging als de persoon een geschiedenis heeft van kindermishandeling. Hieruit kwam naar voren dat er geen verschil was in zelfmoordpogingen tussen de genotypen, als er geen kindermishandeling had plaats gevonden (fig. 6). Als er wel kindermishandeling had plaatsgevonden in het verleden dan was er bij dragers van het A-allel (A/A+A/G) een significante toename in zelfmoordpogingen te zien vergeleken met G/G dragers (48.4% vs 22.7%) (Shinozaki et al, 2013). Dit geeft aan dat er een verband kan zijn tussen HTRA2 en kindermishandeling op depressie.



Figuur 6. HTR2A genotype, geschiedenis van kindermishandeling, en zelfmoord poging (SA) rate. (*) geeft een significant verschil aan (p=0.0065), tussen de mishandelde en niet-mishandelde groep met het A/A genotype. Aangepast van Shinozaki et al (2013).

Ondanks alle controversies is er een kans dat variaties in de genen SLC6A4, HTRA1 en HTRA2 in combinatie met stressvolle gebeurtenissen uit het verleden kunnen leiden tot een verhoogde vatbaarheid voor depressie.

Genetische achtergrond van monoamine oxidase A

Het gen dat codeert voor monoamine oxidase A (MAO-A) is MAOA. In tegenstelling tot de voorgaande studies die betrekking hadden op 5-HT-receptoren, is er meer consensus omtrent de effecten van MAO-A. Polymorfismen in de promotor regio van het MAOA gen kunnen zowel op grootte als op functie worden gecategoriseerd. Promotors groter of gelijk aan 3,5 kb worden gezien als de lange variant en promotors kleiner dan 3,5 kb worden gezien als de korte variant (Meyer-Lindenberg et al, 2006; Vanyukov et al, 1995). De mate van MAO-A-expressie is hoger voor dragers van 3.5, 4 of 5 repeats (MAOA-H) en lager voor de dragers van 2 of 3 repeats (MAOA-L) (Deckert et al, 1999). De lange varianten hebben dus een hogere MAO-A-expressie en de kortere varianten hebben een lagere expressie.

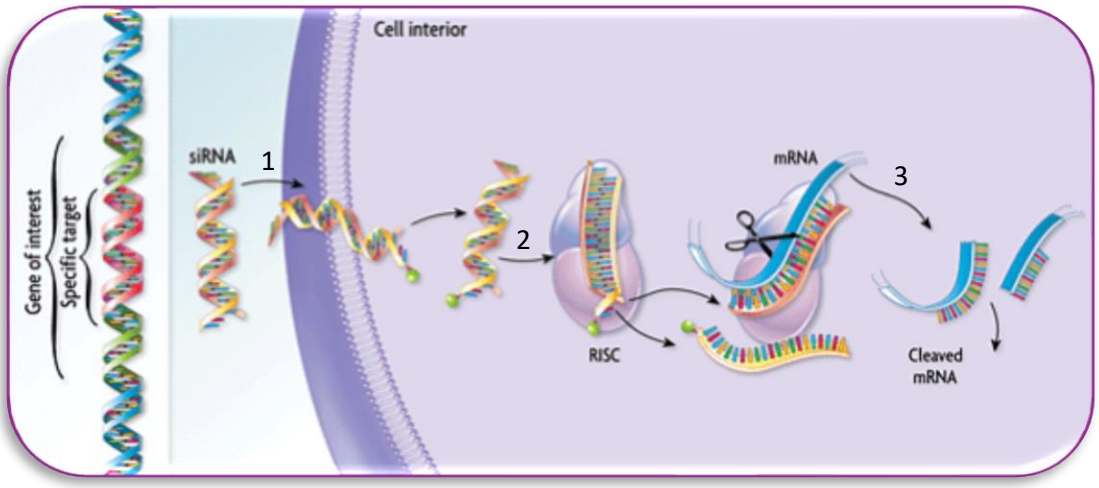
Uit de studie van Belsky et al (2009) bleek dat mannen die een kort allel droegen dat codeerde voor een lage MAO-A-activiteit, en psychosociale problemen hadden ervaren, doorgaans agressiever waren. Zij raakten vaker betrokken bij criminele activiteiten die vooral met geweld te maken hadden. Echter, mannen die dit allel droegen maar geen psychosociale problemen hadden ervaren, lieten minder crimineel gedrag zien. Andere studies die gedaan zijn op mannen en vrouwen met dit allel lieten vergelijkbare resultaten zien (Belsky et al, 2009).

Een hoge MAO-A-activiteit, zorgt doorgaans voor een afname in monoaminen waaronder serotonine. Dit heeft een ander effect dan agressie en heeft te maken met de pathofysiologie van depressie (Shih et al, 1999). Uit de meta-analyse van Liu et al (2016) leek er echter geen correlatie te zijn tussen de lange varianten van de promotor van MAOA en depressie. Wel kwam er uit de data dat er een andere SNP: rs1137070 was op het MAOA gen dat geassocieerd werd met depressie. Deze SNP zorgde voor een verhoogde mRNA expressie van MAO-A bij depressieve patiënten (Zhang et al, 2010). Dit komt overeen met andere studies die beweren dat depressieve patiënten een hogere hoeveelheid MAO-A hebben, vergeleken met gezonde controle groepen (Meyer et al, 2006 ; Zhang et al, 2010).

De werking van siRNA en miRNA

Wanneer een gen actief is wordt het DNA waaruit het gen is opgebouwd overgeschreven naar een enkelstrengs mRNA molecuul. Het mRNA wordt dan op zijn beurt vertaald tot een eiwit (translatie). Indien het mRNA wordt geblokkeerd kan er geen eiwit meer gevormd worden. RNA-interferentie (RNAi) is het natuurlijke verschijnsel waarbij mRNA moleculen gedegradeerd worden door siRNA of miRNA (Bagasra & Prilliman, 2004). RNAi kan gebruikt worden als techniek in de biotechnologie en geneeskunde om selectief genen te onderdrukken. Door genen te onderdrukken kunnen de cellulaire processen en functies van deze genen achterhaald worden. Zo kunnen synthetische siRNA en miRNA moleculen gebruikt worden voor dit proces (Kupferschmidt K, 2013).

siRNA, ook wel small interfering RNA genoemd, is een dubbelstrengs RNA-molecuul van circa 20 tot 25 baseparen in lengte. Deze gemodificeerde dubbel-strengs siRNA fragmenten worden in het cytoplasma gebracht. In het cytoplasma worden de dubbelstrengs fragmenten gescheiden en worden het enkelstrengs siRNA fragmenten. Deze enkelstrengs fragmenten worden in het RISC-complex gebracht door het RISC-loading complex (RLC) (Nakanishi K, 2016). Nadat het enkelstrengs siRNA molecuul geïntegreerd is in het RISC-complex, gaat het op zoek naar het mRNA dat complementair is aan zichzelf. Wanneer het RISC-complex bindt aan het gewenste mRNA, wordt het mRNA afgebroken waarna het niet meer gebruikt kan worden voor translatie (fig. 7) (Ahlquist P, 2002).



Figuur 7. Mechanisme van RNAi met siRNA. 1) dubbel-strengs siRNA wordt in cytoplasma gebracht. 2) enkel-strengs siRNA wordt in het RISC complex geladen. 3) Het complementaire mRNA wordt gedegradeerd Aangepast van Pharmafile (2012).

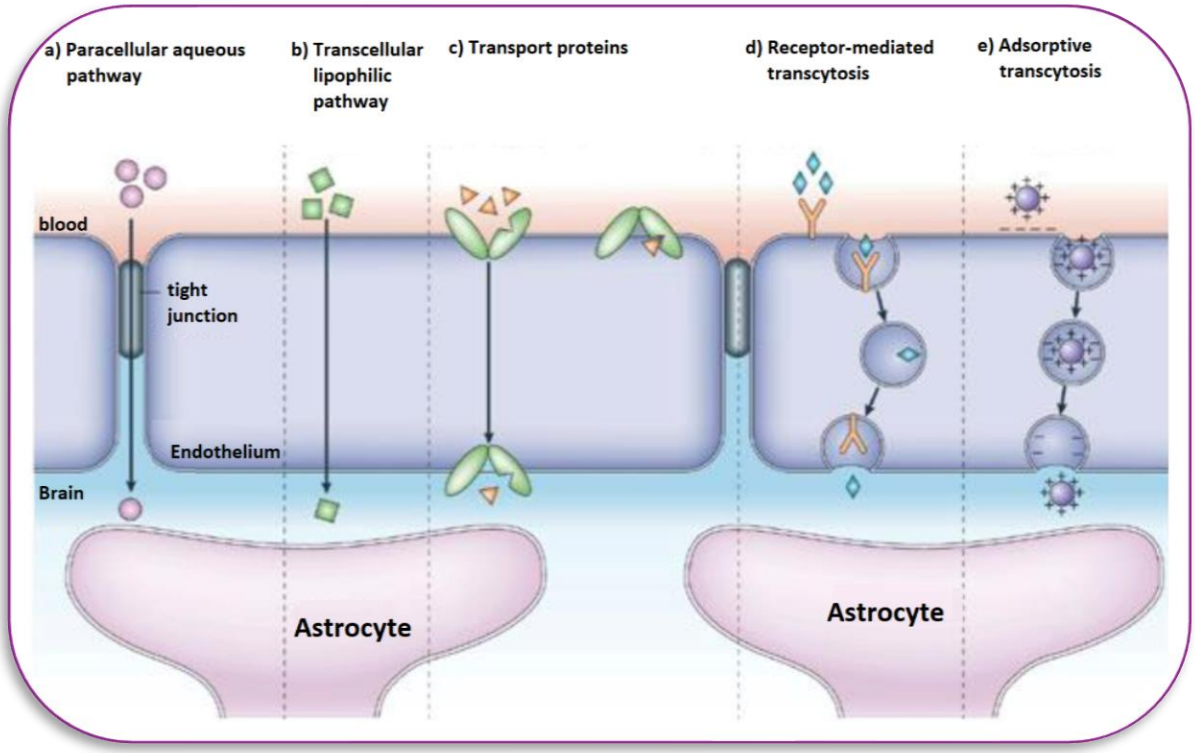
Micro RNA (miRNA), lijkt erg op siRNA maar er zijn een paar verschillen. Terwijl siRNA in het cytoplasma gebracht wordt als dubbel-strengs RNA, is miRNA een enkelstrengs molecuul. Een ander verschil is dat siRNA meestal perfect op het specifieke mRNA past, terwijl miRNA dat niet doet. miRNA bindt op zo'n manier aan het mRNA dat de toegang voor ribosomen geblokkeerd wordt. Hierdoor kan het mRNA niet afgelezen worden. Omdat miRNA niet helemaal perfect op het mRNA past, wordt soms ook de translatie van andere mRNAs geïnhibeert, wat in sommige gevallen onwenselijk is (Roberts TC, 2015).

Naast dat siRNA en miRNA gebruikt kunnen worden om transcriptie te voorkomen, kunnen ze ook gebruikt worden om transcriptie te verhogen (Li et al, 2006; Janowski et al, 2007; Place et al, 2008; Turunen et al, 2009; Huang et al, 2010). siRNA of miRNA dat complementair is aan delen van de promotor van een gen, kan de transcriptie van dat gen verhogen wat RNA-activatie (RNAa) wordt genoemd (Li et al, 2006). Hoe dit gebeurd is nog niet precies bekend, maar men vermoedt dat het te maken heeft met de-methylatie van histonen (Check E, 2007). Histonen zijn eiwitten waar het DNA om gewonden is. Histon methylatie is een proces waarbij methyl groepen aan aminozuren worden gezet van histonen. Door de-methylatie komt er meer ruimte, en ontvouwt het DNA zich. Hierdoor kunnen genen beter afgelezen worden (Cheung & Lau, 2005).

klinische toepassing van siRNA

Om de klinische potentie van RNAi te bereiken, moet siRNA effectief naar de gewenste plek gebracht worden. In het geval van depressie is dit het brein. Dit gaat alleen niet gemakkelijk omdat er een aantal barrières zijn die overwonnen moeten worden voordat het klinisch gebruikt kan worden. Het eerste obstakel is de bloed-hersen barrière. Deze barrière ontstaat door de selectiviteit van de tight-junctions tussen endotheelcellen in het centrale zenuwstelsel, die de doorgang van opgeloste stoffen beperken (Pardridge WM, 2005). Er zijn slechts een paar stoffen die wel de bloed-hersen barrière kunnen passeren. Water, sommige gassen en vet oplosbare moleculen kunnen door middel van passieve diffusie passeren (fig. 8). Stoffen zoals glucose en essentiële aminozuren voor het brein kunnen passeren door middel van transporteiwitten (de Vries et al, 1997).

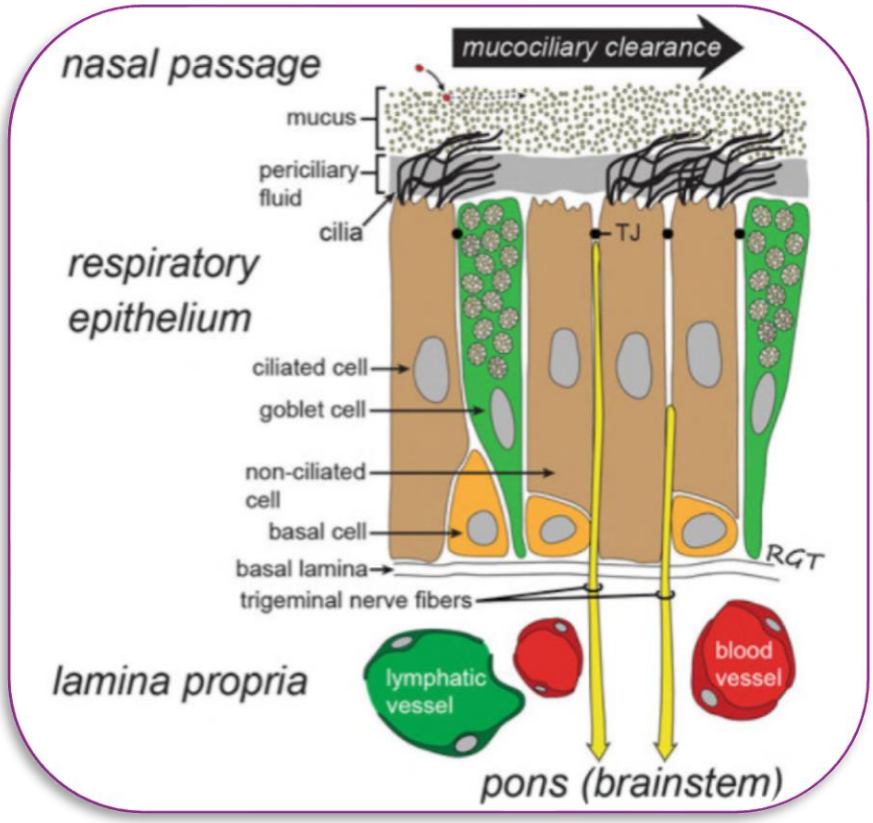
Naast de bloed-hersen barrière zijn er nog meerdere barrières die overwonnen moeten worden. Zo kan er gebruik gemaakt worden van kunstmatige siRNAs of siRNA in nano-deeltjes om deze barrières te omzeilen. Naakt siRNA, siRNA dat niet gemodificeerd is of niet in een nano-deeltje zit, is bijvoorbeeld erg vatbaar voor obstakels die de therapeutische effectiviteit kunnen verminderen. Als het siRNA in de bloedsomloop terecht komt kan het gedegradeerd worden door nucleasen (enzymen die nucleïnezuren afbreken) en het aangeboren immuunsysteem activeren (Kanasty et al, 2013). Daarnaast kunnen siRNA moleculen niet zomaar door een celmembraan gaan, mede doordat ze negatieve ladingen hebben op meerdere plekken. Vandaar dat kunstmatige siRNAs of siRNAs in nanodeeltjes gebruikt moeten worden. De nanodeeltjes zijn allemaal niet-ionische lipiden waardoor ze makkelijk door het membraan heen kunnen. Er kunnen zich echter nog steeds complicaties voordoen als siRNA over het membraan gebracht moet worden. Ongewenste toxiciteit kan optreden als de therapeutische doses niet wordt geoptimaliseerd, en siRNAs kunnen aan ander mRNA binden waardoor er ongewenste downregulatie plaatsvindt van genen (Wittrup & Lieberman, 2015). Zelfs als siRNA goed over het membraan is gekomen, moet de dosering herhaald worden omdat de effecten van het siRNA niet meer aanwezig zijn naar celdeling.



Figuur 8. De bloed-hersen barrière. a) watermoleculen die door tight-junctions kunnen. b) vet oplosbare stoffen zoals antidepressiva kunnen d.m.v. diffusie door de cellen diffunderen. c) glucose en aminozuren komen d.m.v. transport eiwitten over de barrière. d) stoffen zoals insuline kunnen door activatie van receptoren via een vesikel over de cel getransporteerd worden. e) albumine en andere plasma eiwitten kunnen ook via een vesikel over de cel getransporteerd worden zonder een receptor te activeren. Aangepast van Abbott et al (2006).

Om siRNA op de gewenste plek te krijgen zijn er verschillende routes die gebruikt kunnen worden om het toe te dienen. Ondanks dat de toepassing van siRNA alleen nog maar is onderzocht in preklinische studies met muizen, is het voor een therapie van belang om te kijken naar de klinische toepassingsmogelijkheden in de mens. Er zijn verschillende toedieningsroutes waar aan gedacht kan worden:
1) intraparenchymale toediening; rechtstreeks in het hersenweefsel.
2) intra ventriculaire toediening; in de holtes in de hersenen waarin geen weefsel voorkomt maar vloeistof.
3) intrathecale toediening; een pompje dat via een katheter het geneesmiddel afgeeft aan het gebied rond het ruggenmerg (Renner et al, 2012).

Deze toedieningsroutes zijn alleen erg invasief en niet ideaal voor chronische toediening. Toenemend bewijs suggereert dat de intranasale toedieningsweg een niet-invasieve methode biedt om de bloed-hersen barrière te omzeilen en therapeutische middelen direct aan het centrale zenuwstelsel toe te dienen. De intranasale toedieningsweg gaat langs extracellulaire routes die geassocieerd zijn met de olfactorische zenuwen en de nervus trigeminus (fig. 9) (Renner et al, 2012). Naast dat de intranasale route niet invasief is, heeft het nog een aantal voordelen die voornamelijk gebaseerd zijn op de toepassing van geneesmiddelen met een systemische werkingswijze. Deze omvatten meestal een snelle werking en gemak van toediening door neusdruppels of sprays (Lochhead & Thorne, 2012). Het precieze mechanisme van de intranasale toedieningsmethode is echter nog niet geheel bekend. Uit de studies van Renner et al (2012), Bortolozzi et al (2012) en Ferrés-Coy et al (2016), blijkt wel dat siRNA op deze manier de gewenste gebieden in het brein kan bereiken. Dit impliceert dat toediening via de intranasale route door middel van een neusspray eventueel een mogelijke wijze is om siRNA toe te dienen.



Figuur 9. De intranasale toedieningsweg gaat langs het neusslijmvlies. Het neusslijmvlies omvat het epitheel (respiratory epithelium) met slijm producerende cellen en trilhaarcellen, en daaronder het bindweefsel (lamina propria) met lymfe- en bloedvaten. De nervus trigeminus is belangrijk voor het overbrengen van chemo sensorische (geur) en nociceptieve (pijn) informatie, maar ook bij aanraking of temperatuurwisselingen. De nervus trigeminus ligt in het epitheel, en de zenuwuiteinden lopen bijna tot het epitheeloppervlak, net onder de tight junctions van de bloed-hersen barrière. Aangepast van Lochhead & Thorne (2012).

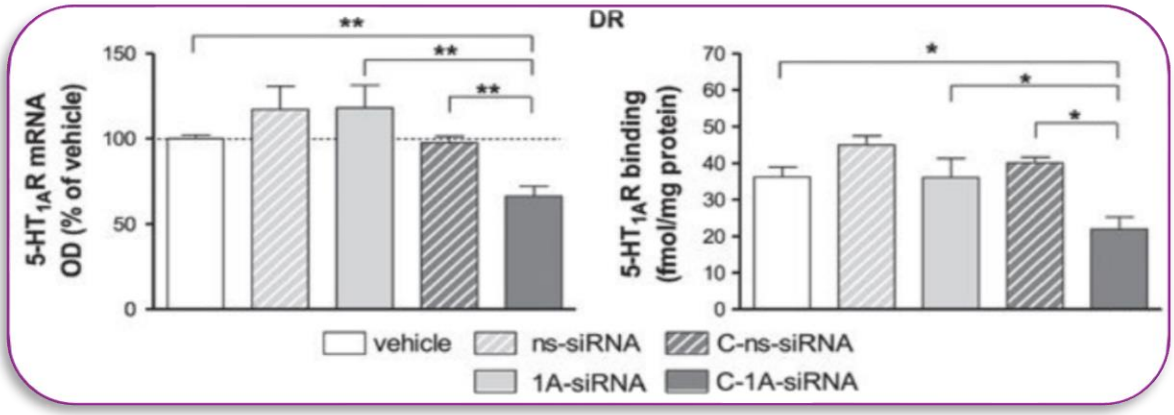
siRNA als therapie voor depressie

Zoals besproken in de introductie zijn serotonine heropname remmers (SSRIs) de meest gebruikte farmacologische therapie tegen depressie. SERT-blokkade door SSRIs voorkomt dat er heropname plaatsvindt wat leidt tot een verhoging van 5-HT in de synapsspleet. Deze verhoging van 5-HT zal uiteindelijk leiden tot klinische verbeteringen. Het nadeel is echter dat SSRIs 6 tot 8 weken gebruikt moeten worden voordat er desensitisatie optreedt van presynaptische 5-HT1A -autoreceptoren en er een therapeutisch effect merkbaar is (Gibbons et al, 2012). Om de werkzaamheid van SSRIs te verbeteren en acute desensitisatie van 5-HT1A -autoreceptoren te initiëren, zal er hier worden ingegaan op het gebruik van siRNA.

Gezien het feit dat depressie onder andere geassocieerd is met genetische polymorfismes die te maken hebben met de regulatie van de gemoedstoestand (Ota & Duman, 2013), kan siRNA een handige techniek zijn om de rol van de kandidaat genen bij depressie te onderzoeken. siRNA kan daarnaast ook gebruikt worden als therapie door translatie van de genen die te maken hebben met depressie te voorkomen. Het is echter erg lastig om siRNA naar de gewenste neuronen in het brein te krijgen vanwege de barrières die besproken zijn in het vorige hoofdstuk. Naast het gebruik van nano-deeltjes en kunstmatig siRNA, kunnen er geconjugeerde siRNA moleculen (C-siRNA) gemaakt worden. Bij dit C-siRNA is de siRNA sequentie covalent gebonden aan een SSRI. In het geval van de studie van Ferrés-Coy et al (2016) en Bortolozzi et al (2012) is dit sertaline. Door het siRNA aan sertaline te koppelen, kan het bij de gewenste serotonine neuronen komen in het brein (Artigas & Bortolozzi, 2017).

C-1A-siRNA

In de studie van Bortolozzi et al (2012) werd er siRNA gebruikt dat gericht was op serotonine neuronen om selectief de expressie en functie van presynaptisch 5-HT1A te verminderen. Daarbij is het van belang dat de functie van post-synaptische 5-HT1A receptoren niet wordt aangetast, omdat zij een belangrijke rol spelen bij het therapeutische effect van antidepressiva (Haddjeri et al, 1998). C-1A-siRNA is C-siRNA dat specifiek is voor de 5-HT1A receptor. Door 0.5–2 nmol C-1A-siRNA per dag intranasaal toe te dienen, verminderde het aantal pre-synaptische 5-HT1A -autoreceptoren in de dorsale raphe nucleus (fig. 10). Deze vermindering trad op zonder dat de post-synaptische 5-HT1A receptor expressie in de hippocampus beïnvloed werd (Bortolozzi et al, 2012). Ondanks dat het nog niet helemaal duidelijk was hoe C-1A-siRNA in de 5-HT-neuronen terecht kwam, vermoedde men dat het net zoals SSRIs via SERT in het neuron terecht zou komen (Ramamoorthy & Blakely, 1999). Dit mechanisme werd bevestigd door eerst een behandeling te starten met de SSRI sertaline. Na deze behandeling had C-siRNA geen effect, wat betekent dat C-siRNA de 5-HT neuronen binnen komen via SERT (Bortolozzi etal, 2012).



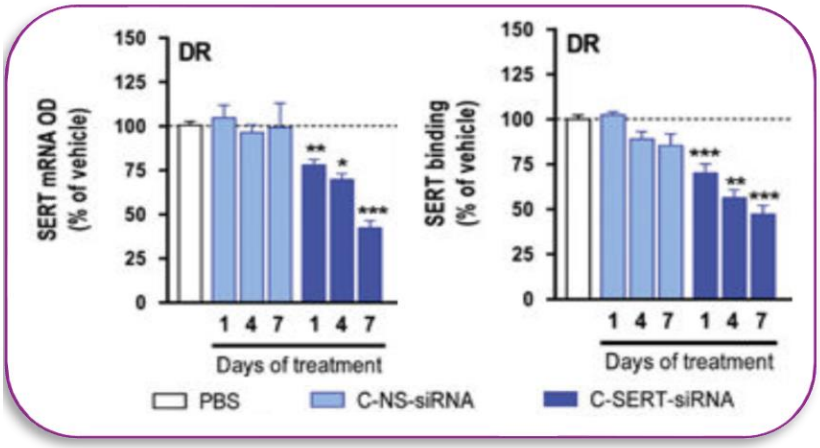
Figuur 10. Links: Significant effect van C-1A-siRNA (30 µg) op vermindering van 5-HT1A autoreceptor mRNA **P<0.01. Rechts: Significant effect van C-1A-siRNA op de binding in de dorsale raphe nucleus (DR) *P<0.05. Aangepast van Bortolozzi et al (2012).

C-1A-siRNA toediening zorgde ervoor dat het aantal 5-HT1A-autoreceptoren verminderd werden, zonder de post-synaptische 5-HT1A expressie te beïnvloeden. Toediening van C-1A-siRNA samen met fluoxetine zorgde er tevens voor dat er een toename ontstond van extracellulair serotonine in tijden van stress. Dit was hetzelfde effect dat gezien was bij muizen waarbij er een knock-out was van het HT1AR gen (Bortolozzi et al, 2012; Ferrés-Coy et al, 2012). De effecten van C-1A-siRNA traden acuut op, zonder te hoeven wachten op de desensitisatie geïnduceerd door SSRIs. Dit impliceert dat C-1A-siRNA potentieel gebruikt zou kunnen worden als acute therapie voor depressie.

C-SERT-siRNA

Lange termijn behandeling met SSRIs zorgt voor een verlaging van SERT-expressie op het celoppervlak van 5-HT-neuronen, zonder de SERT mRNA expressie te beïnvloeden (Baudry et al, 2010; Lau et al, 2008; Benmansour et al, 2002). SERT down-regulatie zou de 5-HT neurotransmissie in het voorbrein kunnen verhogen, wat bijdraagt aan het therapeutische effect van SSRIs (Frazer et al, 2002; Zhao et al, 2009). Door middel van siRNA kan de mRNA expressie van SERT acuut verminderd worden, waarna er een vermindering van SERT plaatsvindt op het membraan van het presynaptisch neuron (Thakker et al, 2005). In het onderzoek van Ferrés-Coy et al (2016) is dezelfde methode toegepast als bij het onderzoek over C-1A-siRNA van Bortolozzi et al (2012). Deze keer is er gekeken naar de toepassing van siRNA op SERT, genoemd SERT-siRNA. Ook deze keer is er gebruik gemaakt van de geconjugeerde variant, C-SERT-siRNA.

Intranasale toediening van C-SERT-siRNA zorgde voor een snel antidepressief effect in muizen. Dit ging gepaard met een vermindering in SERT-mRNA in de dorsale raphe nucleus (fig. 11), verhoogde 5-HT in de voorhersenen, presynaptische 5-HT1A desensitisatie, verhoogde hippocampale neurogenese, en een verhoogde dendritische complexiteit. Daarnaast was er een groot effect van C-SERT-siRNA te zien op de gedragingen van de muizen. De depressieve gedragingen in het muizen model waren volledig omgekeerd na C-SERT-siRNA. Tot slot vonden al deze veranderingen al binnen een week plaats, in tegenstelling tot de SSRI fluoxetine, die er een maand over deed (Ferrés-Coy et al, 2016).



Figuur 11. Links: Significant effect van C-SERT-siRNA op vermindering van SERT-mRNA in de dorsale raphe nucleus (DR) na 1 dag, 4, en 7 dagen. Rechts: Significant effect van C-SERT-siRNA op de binding in de DR na 1 dag, 4, en 7 dagen. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. Aangepast van Ferrés-Coy et al (2016).

Om het effect van C-siRNA te testen op de werkzaamheid in de mens, zijn er bij de studies van Bortolozzi et al (2012) Ferrés-Coy et al (2016) gebruikt gemaakt van verschillende redragstesten bij muizen op vaste volgorde: (1) open field test, (2) sucrose preference test, (3) novelty suppressed-feeding test, en (4) tail suspension test. Omdat de minst intensive testen aan het begin zijn gedaan, hebben zij hoogstwaarschijnlijk geen effect op de uitkomst van de testen die daarna zijn uitgevoerd. Deze gedragingen zijn alleen moeilijk te vergelijken met de depressieve gedragingen in de mens, waardoor het nog niet duidelijk is in over hoeverre deze therapie toepasbaar is in de mens.

Conclusie en discussie

De studies van Bortolozzi et al (2012) en Ferrés-Coy et al (2016) lieten zien dat er een acute antidepressieve werking was van C-1A-siRNA en C-SERT-siRNA. Dit in tegenstelling tot reguliere SSRIs die er minimaal een maand over doen om dezelfde effecten te bewerkstelligen (Ferrés-Coy et al, 2016). Dit impliceert dat C-siRNA potentieel gebruikt zou kunnen worden als acute therapie voor depressie. Het effect van C-siRNA is echter alleen nog onderzocht in muizenmodellen. De werking in mensen zou weer anders uit kunnen pakken. Ook waren dit de enige studies die gedaan waren met het gebruik van C-siRNA op genen die te maken zouden kunnen hebben met depressie. Dit zorgt voor een eenzijdig beeld. Om een beter beeld te kunnen krijgen van het effect van C-siRNA op mRNA van receptoren die met depressie te maken hebben, zouden er meerdere (controle) studies gedaan moeten worden. Dit zou weer kunnen zijn met 5-HT1A mRNA en SERT, maar bijvoorbeeld ook met 5-HT2A, 5-HT2C en MAO-A. De toepassing van siRNA op MAOA zou wellicht gevaren met zich mee kunnen brengen. Huidige specifieke MAO-A remmers zijn reversibel, waardoor ze in de aanwezigheid van tyramine loslaten van MAO-A (Lavian et al, 1993 ; Lotufo-Neto et al,1999). Als men de productie van MAO-A zou verlagen door middel van siRNA, zou er een gevaar kunnen ontstaan door een te hoge concentratie tyramine. Een te hoge concentratie tyramine kan zorgen voor een hypertensieve crisis, oftewel een sterk verhoogde bloeddruk. Dit noemt men het zogenaamde 'kaaseffect' (Blackwell & Mabbitt, 1965).

Zoals genoemd in het hoofdstuk van de genetische achtergrond in depressie, kunnen variaties in de genen SLC6A4, HTRA1, HTRA2 en MAOA in combinatie met stressvolle gebeurtenissen uit het verleden leiden tot een verhoogde vatbaarheid voor depressie. Er is echter nog niet nagedacht over de eventuele effecten van C-siRNA op mensen met een variatie in een van deze genen. Gezien het feit dat deze patiënten minder goed reageren op reguliere antidepressiva, zou deze therapie juist voor hen een uitkomst kunnen zijn. Anderzijds waren er studies die lieten zien dat juist de korte variant van 5-HTTLPR zorgde voor een verhoogde vatbaarheid voor stress en depressie (Caspi et al, 2003; Houwing et al, 2017; Rocha et al, 2015). Voor deze mensen zou RNAa wellicht een uitkomst kunnen zijn, omdat dit de expressie kan verhogen. Hiervoor moet eerst beter onderzoek gedaan worden naar de achterliggende mechanismen van RNAa.

In de studies van Bortolozzi et al (2012) en Ferrés-Coy et al (2016) is er alleen gekeken naar de toepassing van C-siRNA als monotherapie of in combinatie met SSRIs. Vanwege het feit dat veel SSRIs nog voor bijwerkingen zorgen zoals anorexia, slapeloosheid, seksuele dysfunctie, misselijkheid, en diarree (Fawcett & Barkin, 1998 ; Caldis & Gair, 2004), zou er ook gekeken kunnen worden naar een therapie van C-si-RNA in combinatie met Mirtazapine. In tegensteling tot SSRIs is Mirtazapine een 5-HT2A, 5-HT2C, en 5-HT3 antagonist. Het heeft ook nog een antagonistisch effect op de H1 histamine receptoren. Doordat Mirtazapine deze receptoren blokkeert werkt het ook deels als een 5-HT1A receptor agonist (Anttila & Leinonen, 2001). Aangezien SSRIs voor seksuele dysfunctie kunnen zorgen, wat inhoud dat men last heeft van libido verlies en niet meer kunnen klaarkomen, zou si-RNA in combinatie met een SSRI ook gebruikt kunnen worden voor de behandeling van premature ejaculatie. Ook dit zou verder onderzocht kunnen worden.

De beste toediening van siRNA blijkt vooralsnog de intranasale toedieningsweg te zijn. Zo is het een niet-invasieve methode om de bloed-hersen barrière te omzeilen en therapeutische middelen direct aan het centrale zenuwstelsel toe te dienen. Of het daadwerkelijk werkt in het menselijk lichaam zou door klinische studies onderzocht moeten worden. Het precieze mechanisme achter de intranasale route is nog niet geheel bekend.

Naast het serotonerge systeem spelen het noradrenerge en dopaminerge systeem ook nog een rol bij depressie (Delgado & Kahn, 2002). Voor acute behandeling van depressie zou siRNA ook nog toegepast kunnen worden op een van die systemen. Kortom, intranasale toediening van C-1A-siRNA en C-SERT-siRNA zou een mogelijke verbetering kunnen zijn op de reguliere antidepressiva door de acute werking, mede veroorzaakt door de acute desensitisatie van 5-HT1A -autoreceptoren. Hiernaast zou er nog meer onderzoek gedaan kunnen worden naar de acute antidepressieve werking van C-siRNA op andere serotonerge, noradrenerge en dopaminerge receptoren.

Literatuurlijst

-Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. Nat. Rev. Neuro. 7, 41-53. Doi:10.1038/nrn1824

-Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohmmed A, Malhotra P, Bhatnagar RK, Mukherjee SK (2003). RNA interference: biology, mechanism, and applications. Microbiol Mol Biol Rev. 67, 657–85.

-Ahlquist P (2002). RNA-dependent RNA polymerases, viruses, and RNA silencing. Science. 296 (5571), 1270–3. doi:10.1126/science.1069132

-Alexandre C, Popa D, Fabre V, Bouali S, Venault P, Lesch KP, Hamon M, Adrien J (2006). Early life blockade of 5-hydroxytryptamine 1A receptors normalizes sleep and depression-like behavior in adult knock-out mice lacking the serotonin transporter. J Neurosci 26, 5554–5564.

-American Psychiatric Association (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-5. 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Press 296.99 (F34.81). https://doi-org.proxy-ub.rug.nl/10.1176/appi.books.9780890425596.dsm04

-Ames BN, Elson-Schwab I, Silver EA (2002). High-dose vitamin therapy stimulates variant enzymes with decreased coenzyme binding affinity (increased K(m)): relevance to genetic disease and polymorphisms. Am J Clin Nutr 75, 616-658.

-Anderson GM, Gutknecht L, Cohen DJ, Brailly-Tabard S, Cohen JH, Ferrari P, Roubertoux PL, Tordjman S (2002). Serotonin transporter promoter variants in autism: functional effects and relationship to platelet hyperserotonemia. Mol. Psychiatr7, 831–836. doi: 10.1038/sj.mp.4001099

-Andre K, Kampman O, Setala-soikkeli E, Viikki M, Poutanen O, Nuolivirta T, Mononen N, Lehtimaki T, Leinonen E, Illi A (2010).Temperament profiles, 5-HT2A genotype, and response to treatment with SSRIs in major depression. Journal of Neural Transmission 117, 1431-1434.

-Ansorge MS, Zhou M, Lira A, Hen R, Gingrich JA (2004). Early-life blockade of the 5-HT transporter alters emotional behavior in adult mice. Science 306, 879–881.

-Ansorge MS, Morelli E, Gingrich JA (2008). Inhibition of serotonin but not norepinephrine transport during development produces delayed, persistent perturbations of emotional behaviors in mice. J Neurosci 28, 199–207.

-Anttila SA, Leinonen EV (2001). A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. CNS Drug Rev. 7 (3), 249–64.

-Arias B, Catalan R, Gasto C, Gutierrez B, Fananas L (2003). 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in major depression patients treated with citalopram in a 12-weeks follow up study. J Clin Psychopharmacol 23, 563–567.

-Artigas F, Romero L, de Montigny C, Blier P (1996). Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT1A antagonists. Trends Neurosci 19, 378–383.

-Artigas F, Celada P, Laruelle M, Adell A (2001). How does pindolol improve antidepressant action? Trends Pharmacol Sci 22, 224–228.

-Artigas F, Bortolozzi A (2017). Therapeutic Potential of Conjugated siRNAs for the Treatment of Major Depressive Disorder. Neuropsychopharmacology 42, p371. doi:10.1038/npp.2016.182

-Bagasra O, Prilliman KR (2004). RNA interference: the molecular immune system (PDF). J. Mol. Histol. 35 (6), 545–53. doi:10.1007/s10735-004-2192-8

-Baudry A, Mouillet-Richard S, Schneider B, Launay JM, Kellermann O (2010). miR-16 targets the serotonin transporter: a new facet for adaptive responses to antidepressants. Science 329, 1537–1541.

-Belsky J, Jonassaint C, Pluess M, Stanton M, Brummett B & Williams R (2009). Vulnerability genes or plasticity genes? Molecular Psychiatry 14(8), 746–754

-Benedetti F, Serretti A, Colombo C, Campori E, Barbini B, di Bella D, Smeraldi E (1999). Influence of a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene on the effects of total sleep deprivation in bipolar depression. Am J Psychiatry 156, 1450–1452.

-Benedetti F, Colombo C, Serretti A, Lorenzi C, Pontiggia A, Barbini B, Smeraldi E (2003). Antidepressant effects of light therapy combined with sleep deprivation are influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. Biol Psychiatry 54, 687–692.

-Benmansour S, Owens WA, Cecchi M, Morilak DA, Frazer A (2002). Serotonin clearance in vivo is altered to a greater extent by antidepressant-induced downregulation of the serotonin transporter than by acute blockade of this transporter. J Neurosci 22, 6766–6772.

-Blackwell B, Mabbitt LA (1965).Tyramine in cheese related to hypertensive crisis after monoamine-oxidase inhibition. The Lancet, 285(7392), 938 - 940.

-Blier P, de Montigny C (1994). Current advances and trends in the treatment of depression. Trends Pharmacol Sci 15, 220–226.

-Bortolozzi A, Castañé A, Semakova J, Santana N, Alvarado G, Cortés R, Ferrés-Coy A, Fernández G, Carmona MC, Toth M, Perales JC, Montefeltro A, Artigas F (2012). Selective siRNA mediated suppression of 5-HT1A autoreceptors evokes strong anti-depressant-like effects. Mol Psychiatry 17, 612–623.

-Caldis EV, Gair RD (2004). "Mirtazapine for treatment of nausea induced by selective serotonin reuptake inhibitors". Canadian Journal of Psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie 49 (10), 707. doi:10.1177/070674370404901014

-Cannon DM, Ichise M, Fromm SJ, Nugent AC, Rollis D, Gandhi SK, Klaver JM, Charney DS, Manji HK, Drevets WC (2006). Serotonin transporter binding in bipolar disorder assessed using [11C]DASB and positron emission tomography. Biol Psychiatry 60, 207-217

-Cannon DM, Ichise M, Rollis D, Klaver JM, Gandhi SK, Charney DS, Manji HK, Drevets WC (2007). Elevated serotonin transporter binding in major depressive disorder assessed using positron emission tomography and [11C]DASB: comparison with bipolar disorder. Biol Psychiatry 62, 870-877

-Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. Science 301, 386–389. doi: 10.1126/science. 1083968

-Chapman DP, Whitfield CL, Felitti VJ, Dube SR, Edwards VJ, Anda RF (2004). Adverse childhood experiences and the risk of depressive disorders in adulthood. J Affect Disord 82(2), 217–225.

-Check E (2007). RNA interference: hitting the on switch. Nature 448 (7156), 855–858. doi:10.1038/448855a

-Chen ZY, Hotamisligil GS, Huang JK, Wen L, Ezzeddine D, Aydin-Muderrisoglu N, Powell JF, Huang RH, Breakefield XO, Craig I (1991). Structure of the human gene for monoamine oxidase type A. Nucleic acids research 19, 4537–4541.

-Cheung P, Lau P (2005). Epigenetic Regulation by Histone Methylation and Histone Variants. Molecular Endocrinology 19.3, 563. Print

-Culverhouse RC, Saccone NL, Horton AC, Ma Y, Anstey KJ, Banaschewski T, Burmeister M, Cohen-Woods S, Etain B (2017). Collaborative meta-analysis finds no evidence of a strong interaction between stress and 5-HTTLPR genotype contributing to the development of depression. Molecular Psychiatry. doi:10.1038/mp.2017.44

-De Vries HE, Kuiper J, De Boer AG, Van Berkel, Theo JC, Breimer DD (1997). The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases. Pharmacological Reviews 49 (2), 143–55.

-Deckert J, Catalano M, Syagailo YV, Bosi M, Okladnova O, Di Bella D, Nöthen MM, Maffei P, Franke P, Fritze J, Maier W, Propping P, Beckmann H, Bellodi L, Lesch KP (1999). Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. Hum Mol Genet 8, 621–624.

-Delgado PL, Kahn RS (2002). Sequential catecholamine and serotonin depletion in mirtazapine-treated depressed patients. Int J Neuropsychopharmacol 5(1), 63–66.

-Eison AS, Mullins UL (1996). Regulation of central 5-HT2A receptors: a review of in vivo studies. Behavioural Brain Research. 73 (1–2): 177–81. doi:10.1016/0166-4328(96)00092-7.

-Fabre V, Beaufour C, Evrard A, Rioux A, Hanoun N, Lesch KP, Murphy DL, Lanfumey L, Hamon M, Martres MP (2000). Altered expression and functions of serotonin 5-HT1A and 5-HT1B receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. Eur J Neurosci 12, 2299–2310.

-Fawcett J, Barkin RL (1998). Review of the results from clinical studies on the efficacy, safety and tolerability of mirtazapine for the treatment of patients with major depression. Journal of Affective Disorders 51 (3), 267–85. doi:10.1016/S0165-0327(98)00224-9

-Ferrés-Coy A, Santana N, Castañé A, Cortés R, Carmona MC, Toth M, Montefeltro A, Artigas F, Bortolozzi A (2012). Acute 5-HT1A autoreceptor knockdown increases antidepressant responses and serotonin release in stressful conditions. Psychopharmacology (Berl) 225: 61–74.

-Ferrés-Coy A, Pilar-Cuellar F, Vidal R, Paz V, Masana M, Cortés R, Carmona MC, Campa L, Pazos Á, Montefeltro A, Valdizán EM, Artigas F, Bortolozzi A (2013). RNAi-mediated serotonin transporter

suppression rapidly increases serotonergic neurotransmission and hippocampal neurogenesis. Translational Psychiatry 3, e211. doi:10.1038/tp.2012.135

-Ferrés-Coy A, Galofré M, Pilar-Cuéllar F, Vidal R, Paz V, Ruiz-Bronchal E, Campa L, Pazos Á, Caso JR, Leza JC, Alvarado G, Montefeltro A, Valdizán EM, Artigas F, Bortolozzi A (2016). Therapeutic antidepressant potential of a conjugated siRNA silencing the serotonin transporter after intranasal administration. Mol Psychiatry. 21: 328–338.

-Frazer A, Benmansour S (2002). Delayed pharmacological effects of antidepressants. Mol Psychiatry. 7: S23–S28.

-Gibbons RD, Hur K, Brown CH, Davis JM, Mann JJ (2012). Benefits from antidepressants: synthesis of 6-week patient-level outcomes from double-blind placebo-controlled randomized trials of fluoxetine and venlafaxine. Archives of General Psychiatry 69 (6), 572. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.2044

-Goldman LS, Nielsen NH, Champion HC, for the Council on Scientific Affairs, American Medical Association (1999). Awareness, Diagnosis, and Treatment of Depression. Journal of General Internal Medicine 14(9), 569-580. doi:10.1046/j.1525-1497.1999.03478.x.

-Gonda X, Fountoulakis KN, Juhasz G, Rihmer Z, Lazary J, Laszik A, Akiskal HS, Bagdy G (2009). Association of the s allele of the 5-HTTLPR with neuroticism-related traits and temperaments in a psychiatrically healthy population. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 259, 106–113.

-Gray JA, Roth BL (2007). Serotonin systems, in Handbook of Contemporary Neuropharmacology (Sibley D, Kuhar M, Hanin I, en Skolnick P eds), pp 257–298, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ.

-Greenberg BD, Tolliver TJ, Huang SJ, Li Q, Bengel D, and Murphy DL (1999). Genetic variation in the serotonin transporter promoter region affects serotonin uptake in human blood platelets. Am. J. Hum. Genet. 88, 83–87.doi: 10.1002/(SICI)1096-8628(19990205)88:1<83::AID-AJMG15>3.0.CO;2-0

-Haddjeri N, Blier P, de Montigny C (1998). Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT1A receptors. J Neurosci 18, 10150–10156.

-Hadland KA, Rushworth MF, Gaffan D, Passingham RE (2003). The effect of cingulate lesions on social behaviour and emotion. Neuropsychologia. 41 (8), 919–931. doi:10.1016/s0028-3932(02)00325-1

-Hanley NR & Van de Kar LD (2003). Serotonin and the neuroendocrine regulation of the hypothalamic--pituitary-adrenal axis in health and disease. Vitam. Horm. 66, 189-255

-Hettema JM, An SS, van den Oord EJ, Neale MC, Kendler KS, Chen X (2008). Association study between the serotonin 1A receptor (HTR1A) gene and neuroticism, major depression, and anxiety disorders. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 147B, 661–666.

-Holmes A, Yang RJ, Murphy DL, Crawley JN (2002). Evaluation of antidepressant-related behavioral responses in mice lacking the serotonin transporter. Neuropsychopharmacology 27, 914–923.

-Holmes A, Li Q, Murphy DL, Gold E, Crawley JN (2003). Abnormal anxiety-related behavior in serotonin transporter null mutant mice: the influence of genetic background. Genes Brain Behav 2, 365–380.

-Hong CJ, Chen TJ, Yu YW, Tsai SJ (2006). Response to fluoxetine and serotonin 1A receptor (C-1019G) polymorphism in Taiwan Chinese major depressive disorder. Pharmacogenomics J 6, 27–33.

-Horstmann S, Lucae S, Menke A, Hennings JM, Ising M, Roeske D, Muller-Myhsok B, Holsboer F, Binder EB (2010). Polymorphisms in GRIK4, HTR2A, and FKBP5 show interactive effects in predicting remission to antidepressant treatment. Neuropsychopharmacology 35, 727-740

-Houwing DJ, Buwalda B, Zee van der E, de Boer SF, Olivier JDA (2017). The serotonin transporter and early life stress: Translational perspectives. Frontiers in cellular neuroscience 11, 117. DOI: 10.3389/fncel.2017.00117

-Huang V, Qin Y, Wang J, Wang X, Place RF, Lin G, Lue TF, Li LC (2010). RNAa is conserved in mammalian cells. PLoS ONE. 5(1), e8848. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008848

-Ichimiya T, Suhara T, Sudo Y, et al (2002). Serotonin transporter binding in patients with mood disorders: a PET study with [11C](+)McN5652. Biol Psychiatry 51, 715-722

-Illi A, Setala-Soikkeli E, Viikki M, Poutanen O, Huhtala H, Mononen N, Lehtimaki T, Leinonen E, Kampman O (2009). 5-HTR1A, 5-HTR2A, 5-HTR6, TPH1 and TPH2 polymorphisms and major depression. Neuroreport 20(12), 1125-1128. doi:10.1097/WNR.0b013e32832eb708

-Janowski BA, Younger ST, Hardy DB, Ram R, Huffman KE, Corey DR (2007). Activating gene expression in mammalian cells with promoter-targeted duplex RNAs. Nat Chem Biol. 3(3):166–173.

-Jenkins TA, Nguyen JCD, Polglaze KE, Bertrand PP (2016). Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis. Nutrients. 8(1), 56. doi:10.3390/nu8010056.

-Kalueff AV, Fox MA, Gallagher PS, Murphy DL (2007). Hypolocomotion, anxiety and serotonin syndrome-like behavior contribute to the complex phenotype of serotonin transporter knockout mice. Genes Brain Behav 6, 389–400.

-Kanasty R, Dorkin JR, Vegas A, Anderson D (2013). Delivery materials for siRNA therapeutics. Nature Materials 12(11), 967–977. doi:10.1038/nmat3765

-Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE (2005). Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Arch Gen Psychiatry 62, 617–627.

-Kim DK, Lim SW, Lee S, Sohn SE, Kim S, Hahn CG, Carroll BJ (2000). Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. Neuroreport 11, 215–219.

-Kim HK, Kim SJ, Lee YJ, Lee HJ, Kang SG, Choi JE, Yun KW, Lim WJ (2011). Influence of the Interaction between the Serotonin 1A Receptor C-1019G Polymorphism and Negative Life Stressors on the Development of Depression. Neuropsychobiology 64, 1-8

-Kishi T, Tsunoka T, Ikeda M, Kawashima K, Okochi T, Kitajima T, Kinoshita Y, Okumura T, Yamanouchi Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N (2009). Serotonin 1A receptor gene and major depressive disorder: an association study and meta-analysis. J Hum Genet 54, 629– 633.

-Kishi T, Yoshimura R, Kitajima T, Okochi T, Okumura T, Tsunoka T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Naitoh H, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N (2010). HTR2A is Associated with SSRI

Response in Major Depressive Disorder in a Japanese Cohort. Neuromol Med 12, 237. https://doi-org.proxy-ub.rug.nl/10.1007/s12017-009-8105-y

-Krishnan V, Nestler EJ (2008). The molecular neurobiology of depression. Nature 455, 894–902.

-Kupferschmidt K (2013). A Lethal Dose of RNA. Science 341(6147), 732–3. doi:10.1126/science.341.6147.732

-Lau T, Horschitz S, Berger S, Bartsch D, Schloss P (2008). Antidepressant-induced internalization of the serotonin transporter in serotonergic neurons. FASEB J 22, 1702–1714.

-Lavian G, Finberg JP, Youdim MB (1993). The advent of a new generation of monoamine oxidase inhibitor antidepressants: pharmacologic studies with moclobemide and brofaromine. Clinical Neuropharmacology 16 (2), S1–7.

-Lemonde S, Turecki G, Bakish D, Du L, Hrdina PD, Bown CD, Sequeira A, Kushwaha N, Morris SJ, Basak A, Ou XM, Albert PR (2003). Impaired repression at 5-hydroxytryptamine1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. J Neurosci 23, 8788–8799.

-Lesch KP, Meyer J, Glatz K, Flügge G, Hinney A, Hebebrand J, Klauck SM, Poustka A, Poustka F, Bengel D, Mössner R, Riederer P, Heils A (1997). The 5-HT transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) in evolutionary perspective: Alternative biallelic variation in rhesus monkeys. J. Neural Transm. 104, 1259–1266. doi: 10.1007/BF01294726

-Li LC, Okino ST, Zhao H, Pookot D, Place RF, Urakami S, Enokida H, Dahiya R (2006). Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells. Proc Natl Acad Sci U S A 103(46), 17337–17342.

-Li Q, Wichems C, Heils A, Van De Kar LD, Lesch KP, Murphy DL (1999). Reduction of 5-hydroxytryptamine (5-HT)(1A)-mediated temperature and neuroendocrine responses and 5-HT(1A) binding sites in 5-HT transporter knockout mice. J Pharmacol Exp Ther 291, 999–1007.

-Liu, Z., Huang, L., Luo, X, Wu L, Li M (2016). MAOA Variants and Genetic Susceptibility to Major Psychiatric Disorders. Mol Neurobiol 53, 4319. https://doi-org.proxy-ub.rug.nl/10.1007/s12035-015-9374-0

-Lochhead JJ, Thorne RG (2012). Intranasal delivery of biologics to the central nervous system. Adv Drug Deliv Rev 64(7), 614-28. doi: 10.1016/j.addr.2011.11.002.
-Lohoff FW (2010). Overview of the Genetics of Major Depressive Disorder. Curr Psychiatry Rep. 2010 Dec; 12(6): 539–546. doi: 10.1007/s11920-010-0150-6

-Lohoff FW, Aquino TD, Narasimhan S, Multani PK, Etemad B, Rickels K (2013). Serotonin receptor 2A (HTR2A) gene polymorphism predicts treatment response to venlafaxine XR in generalized anxiety disorder. Pharmacogenomics Journal 13, 21-26.

-Lotufo-Neto F, Trivedi M, Thase ME (March 1999). Meta-analysis of the reversible inhibitors of monoamine oxidase type A moclobemide and brofaromine for the treatment of depression. Neuropsychopharmacology. 20 (3), 226–47. doi:10.1016/S0893-133X(98)00075-X

-Lucae S, Ising M, Horstmann S, Baune BT, Arolt V, Muller-Myhsok B, Holsboer F, Domschke K (2010). HTR2A gene variation is involved in antidepressant treatment response. European Neuropsychopharmacology 20, 65-68.

-Lummis SC (2012). 5-HT(3) receptors. The Journal of biological chemistry 287(48), 40239-45.

-Mahley RW (1988). Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science 240 (4852), 622–30. doi:10.1126/science.3283935

-Mandelli L, Serretti A, Marino E, Pirovano A, Calati R, Colombo C (2007). Interaction between serotonin transporter gene, catechol-Omethyltransferase gene and stressful life events in mood disorders. Int J Neuropsychopharmacol 10, 437–447.

-Mathews TA, Fedele DE, Coppelli FM, Avila AM, Murphy DL, Andrews AM (2004). Gene dose-dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression. J Neurosci Methods 140, 169–181.

-Mato S, Vidal R, Castro E, Díaz A, Pazos A, and Valdizán EM (2010). Long-term fluoxetine treatment modulates cannabinoid type 1 receptor-mediated inhibition of adenylyl cyclase in the rat prefrontal cortex through 5-hydroxytryptamine 1A receptor-dependent mechanisms. Mol Pharmacol 77, 424–434.

-McMahon FJ, Buervenich S, Charney D, Lipsky R, Rush AJ, Wilson AF, Sorant AJ, Papanicolaou GJ, Laje G, Fava M, Trivedi MH, Wisniewski SR, Manji H (2006). Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. American Journal of Human Genetics 78, 804-814.

-Meyer JH, Kapur S, Eisfeld B, Brown GM, Houle S, DaSilva J, Wilson AA, Rafi-Tari S, Mayberg HS, Kennedy SH (2001).The effect of paroxetine on 5-HT(2A) receptors in depression: an [(18)F]setoperone PET imaging study. Am J Psychiatry 158, 78-85

-Meyer JH, Houle S, Sagrati S, Carella A, Hussey DF, Ginovart N, Goulding V, Kennedy J, Wilson AA (2004). Brain serotonin transporter binding potential measured with carbon 11-labeled DASB positron emission tomography: effects of major depressive episodes and severity of dysfunctional attitudes. Arch Gen Psychiatry 61, 1271-1279

-Meyer JH, Ginovart N, Boovariwala A, Sagrati S, Hussey D, Garcia A, Young T, Praschak-Rieder N, Wilson AA, Houle S (2006). Elevated monoamine oxidase a levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression. Archives of General Psychiatry 63(11), 1209–16. doi:10.1001/archpsyc.63.11.1209

-Meyer-Lindenberg A, Buckholtz JW, Kolachana B, R Hariri A, Pezawas L, Blasi G, Wabnitz A, Honea R, Verchinski B, Callicott JH, Egan M, Mattay V, Weinberger DR (2006). Neural mechanisms of genetic risk for impulsivity and violence in humans. Proc Natl Acad Sci USA 103(16), 6269–6274.

-Murphy GM, Kremer C, Rodrigues H, Schatzberg AF (2003). The apolipoprotein E epsilon4 allele and antidepressant efficacy in cognitively intact elderly depressed patients. Biol Psychiatry 54(7), 665–673

-Murphy DL, Fox MA, Timpano KR, Moya PR, Ren-Patterson R, Andrews AM, Holmes A, Lesch KP, Wendland JR (2008). How the serotonin story is being rewritten by new gene-based discoveries principally related to SLC6A4, the serotonin transporter gene, which functions to influence all cellular serotonin systems. Neuropharmacology 55, 932–960. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.08.034

-Munafò MR, Durrant C, Lewis G, Flint J (2009). Gene X environment interactions at the serotonin transporter locus. Biological Psychiatry 65 (3), 211–9. doi:10.1016/j.biopsych.2008.06.009

-Nakanishi K (2016). Anatomy of RISC: how do small RNAs and chaperones activate Argonaute proteins? Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA. 7 (5), 637–660. doi:10.1002/wrna.1356

-Neff CD, Abkevich V, Packer JC, Chen Y, Potter J, Riley R, Davenport C, DeGrado Warren J, Jammulapati S, Bhathena A, Choi WS, Kroeger PE, Metzger RE, Gutin A, Skolnick MH, Shattuck D, Katz DA (2009). Evidence for HTR1A and LHPP as interacting genetic risk factors in major depression. Mol Psychiatry 14, 621–630.

-Niswender CM, Herrick-Davis K, Dilley GE, Meltzer HY, Overholser JC, Stockmeier CA, Emeson RB, Sanders-Bush E (2001). RNA editing of the human serotonin 5-HT2C receptor. alterations in suicide and implications for serotonergic pharmacotherapy. Neuropsychopharmacology 24 (5), 478–91. doi:10.1016/S0893-133X(00)00223-2

-Nobile M, Begni B, Giorda R, Frigerio A, Marino C, Molteni M, Ferrarese C, Battaglia M (1999). Effects of serotonin transporter promoter genotype on platelet serotonin transporter functionality in depressed children and adolescents. J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 38, 1396–1402.doi: 10.1097/00004583-199911000-00014

-Ota KT, Duman RS (2013). Environmental and pharmacological modulations of cellular plasticity: role in the pathophysiology and treatment of depression. Neurobiol Dis 57, 28–37.

-Pardridge WM (2005). The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. NeuroRX. 2 (1), 3–14. doi:10.1602/neurorx.2.1.3

-Parsey RV, Hastings RS, Oquendo MA, Huang YY, Simpson N, Arcement J, Huang Y, Ogden RT, Van Heertum RL, Arango V, Mann JJ (2006). Lower serotonin transporter binding potential in the human brain during major depressive episodes. Am J Psychiatry 163, 52-58

-Perlis RH, Mischoulon D, Smoller JW, Wan YJ, Lamon-Fava S, Lin KM, Rosenbaum JF, Fava M (2003).Serotonin transporter polymorphisms and adverse effects with fluoxetine treatment. Biol Psychiatry 54, 879–883.

-Peters EJ, Slager SL, Jenkins GD, Reinalda MS, Garriock HA, Shyn SI, Kraft JB, Mcgrath PJ, Hamilton SP (2009). Resequencing of serotonin-related genes and association of tagging SNPs to citalopram response. Pharmacogenetics and Genomics 19, 1-10.

-Pharmafile | New frontiers in drug discovery (2012). Geraadpleegd op 20 januari 2018, van http://www.pharmafile.com/news/174381/new-frontiers-drug-discovery

-Pickel VM, Chan J (1999). Ultrastructural localization of the serotonin transporter in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens. J Neurosci 19, 7356–7366.

-Piñeyro G, Blier P (1999). Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. Pharmacol Rev 51, 533–591.

-Place RF, Li LC, Pookot D, Noonan EJ, Dahiya R (2008). MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. Proc Natl Acad Sci U S A 105(5), 1608–1613.

-Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, Mazumdar S, Miller M, Sweet RA, Davis S, Kirshner MA, Houck PR, Stack JA, Reynolds CF, Kupfer DJ (2000). Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. Neuropsychopharmacology 23, 587–590.

-Polter AM and Li X (2011). Glycogen Synthase Kinase-3 is an Intermediate Modulator of Serotonin Neurotransmission. Front Mol Neurosci 4,31.

-Popa D, Lena C, Alexandre C, Adrien J (2008). Lasting syndrome of depression produced by reduction in serotonin uptake during postnatal development: evidence from sleep, stress, and behavior. J Neurosci 28, 3546–3554.

-Ramamoorthy S, Blakely RD (1999). Phosphorylation and sequestration of serotonin transporters differentially modulated by psychostimulants. Science 285, 763–766.

-Rang HP, Dale MM, Ritter JM (2001). Other peripheral mediators: 5-hydroxytryptamine and purines. In: Pharmacology, 4th edition. Edinburgh, UK: Harcourt Publishers Ltd, 2001:165–176.

-Rausch JL, Johnson ME, Fei YJ, Li JQ, Shendarkar N, Hobby HM, Ganapathy V, Leibach FH (2002). Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. Biol Psychiatry 51, 723–732.

-Reid IC, Wolf CR (2009). Polymorphisms in the SLC6A4 and HTR2A genes influence treatment outcome following antidepressant therapy. The Pharmacogenomics Journal 9, 61–70 doi:10.1038/sj.tpj.6500491

-Reivich M, Amsterdam JD, Brunswick DJ, Shiue CY (2004). PET brain imaging with [11C](+)McN5652 shows increased serotonin transporter availability in major depression. J Affect Disord 82, 321-327

-Renner DB, FreyII WH, Hanson LR (2012). Intranasal delivery of siRNA to the olfactory bulbs of mice via the olfactory nerve pathway. Neuroscience Letters 513(2), 193-197. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.02.037

-Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM (2009). L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. Int J Tryptophan Res. 2, 45-60.

-Risch N, Herrell R, Lehner T, Liang KY, Eaves L, Hoh J, Griem A, Kovacs M, Ott J, Merikangas KR (2009). Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. JAMA 301 (23), 2462–71. doi:10.1001/jama.2009.878

-Roberts TC (2015). The microRNA Machinery. Advances in Experimental Medicine and Biology. 887, 15–30. doi:10.1007/978-3-319-22380-3_2

-Rocha TB, Hutz MH, Salatino-oliveira A, Genro JP (2015). Gene-Environment Interaction in Youth Depression : Replication of the 5-HTTLPR Moderation in a Diverse Setting. American journal of psychiatry 172(10), 978-985.

-Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, Niederehe G, Thase ME, Lavori PW, Lebowitz BD, McGrath PJ, Rosenbaum JF, Sackeim HA, Kupfer DJ, Luther J, Fava M (2006). Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR*D report. Am J Psychiatry 163, 1905–1917.

-Schinka JA, Busch RM, Robichaux-Keene N (2004). A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and trait anxiety. Mol Psychiatry 9, 197–202.

-Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, Keller J, Glover GH, Kenna H, Reiss AL, Greicius MD (2007). Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. J Neurosci 27(9)

-Sen S, Burmeister M, and Ghosh D (2004). Meta-analysis of the association between a serotonin transporter promoter polymorphism (5-HTTLPR) and anxiety-related personality traits. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 127B, 85–89. doi: 10.1002/ajmg.b.20158

-Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Ikeda K, Yamamoto H, Yamamoto T, Lesch KP, Murphy DL, Hall FS, Uhl GR, Sora I (2004). Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in vivo microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters. Neuropsychopharmacology 29, 1790–1799.

-Shih JC, Chen K, Ridd MJ (1999). Monoamine oxidase: from genes to behaviour. Annu Rev Neurosci 22, 197-217.

-Shinozaki G, Romanowicz M, Mrazek DA, Kung S (2013). HTR2A gene–child abuse interaction and association with a history of suicide attempt among Caucasian depressed psychiatric inpatients. Journal of Affective Disorders 150(3), 1200-1203. https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.05.028

-Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M (1998). Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. Mol Psychiatry 3, 508–511.

-Smith K (2007). Cognitive Psychology: Mind and Brain. New Jersey: Prentice Hall. pp. 21, 194–199, 349.

-Smits KM, Smits LJ, Schouten JS, Stelma FF, Nelemans P, Prins MH (2004). Influence of SERTPR and STin2 in the serotonin transporter gene on the effect of selective serotonin reuptake inhibitors in depression: a systematic review. Mol Psychiatry 9, 433–441.

-Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TN, Friedman L, Rajkowska G (1998). Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression-postmortem evidence for decreased serotonin activity. J Neurosci 18, 7394–7401.

-Stockmeier CA (2003). Involvement of serotonin in depression: evidence from postmortem and imaging studies of serotonin receptors and the serotonin transporter. J Psychiatr Res 37, 357-373.

-Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. Am J Psychiatry. Oct; 157(10), 1552-62.

-Terracciano A, Balaci L, Thayer J, Scally M, Kokinos S, Ferrucci L, Tanaka T, Zonderman AB, Sanna S, Olla N, Zuncheddu MA, Naitza S, Busonero F, Uda M, Schlessinger D, Abecasis G, Costa PT (2009). Variants of the serotonin transporter gene and NEO-PI-R Neuroticism: No association in the BLSA and SardiNIA samples. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 150B, 1070–1077. doi: 10.1002/ajmg.b.30932

-Thakker DR, Natt F, Hüsken D, van der Putten H, Maier R, Hoyer D, Cryan JF (2005). siRNA mediated knockdown of the serotonin transporter in the adult mouse brain. Mol Psychiatry 10, 782–789

-Tjurmina OA, Armando I, Saavedra JM, Goldstein DS, Murphy DL (2002). Exaggerated adrenomedullary response to immobilization in mice with targeted disruption of the serotonin transporter gene. Endocrinology 143, 4520–4526.

-Toth M (2003). 5-HT1A receptor knockout mouse as a genetic model of anxiety. Eur J Pharmacol 463, 177–184.

-Trimbos-instituut | Depressie: feiten en cijfers. (2017). Geraadpleegd op 9 januari 2018, van https://www.trimbos.nl/themas/depressie/depressie-feiten-en-cijfers

-Trivedi MH, Fava M, Wisniewski SR, Thase ME, Quitkin F, Warden D, Ritz L, Nierenberg AA, Lebowitz BD, Biggs MM, Luther JF, Shores-Wilson K, Rush AJ; STAR*D Study Team (2006). Medication augmentation after the failure of SSRIs for depression. N Engl J Med 354, 1243–1252

-Turunen MP, Lehtola T, Heinonen SE, Assefa GS, Korpisalo P, Girnary R, Glass CK, Väisänen S, Ylä-Herttuala S (2009). Efficient regulation of VEGF expression by promoter-targeted lentiviral shRNAs based on epigenetic mechanism: a novel example of epigenetherapy. Circ Res. 105(6), 604–609.

-Van Oekelen D, Luyten WH, and Leysen JE (2003). 5-HT2A and 5-HT2C receptors and their atypical regulation properties. Life Sci 72, 2429–2449.

-Vanyukov MM, Moss HB, Yu LM, Tarter RE, Deka R (1995). Preliminary evidence for an association of a dinucleotide repeat polymorphism at the MAOA gene with early onset alcoholism/substance abuse. Am J Med Genet A 60(2), 122–126.

-Videtic A, Zupanc T, Pregelj P, Balazic J, Tomori M, Komel R (2009). Suicide, stress and serotonin receptor 1A promoter polymorphism -1019C 1 G in Slovenian suicide victims. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 259, 234–238.

-Wankerl M, Miller R, Kirschbaum C, Hennig J, Stalder T, Alexander N (2014). Effects of genetic and early environmental risk factors for depression on serotonin transporter expression and methylation profiles. Transl. Psychiatry 4, 402. doi: 10.1038/tp.2014.37

-Weissman MM, Wickramaratne P, Adams PB, Lish JD, Horwath E, Charney D, Woods SW, Leeman E, Frosch E (1993). The relationship between panic disorder and major depression. A new family study. Arch Gen Psychiatry. 50(10), 767-80.

-Wellman CL, Izquierdo A, Garrett JE, Martin KP, Carroll J, Millstein R, Lesch KP, Murphy DL, Holmes A (2007). Impaired stress-coping and fear extinction and abnormal corticolimbic morphology in serotonin transporter knock-out mice. J Neurosci 27, 684–691.

-Wisor JP, Wurts SW, Hall FS, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR, Edgar DM (2003). Altered rapid eye movement sleep timing in serotonin transporter knockout mice. NeuroReport 14, 233–238.

-Wittrup A, Lieberman J (2015). Knocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics. Nature Reviews. Genetics 16 (9), 543–552. doi:10.1038/nrg3978

-Wong ML, Licinio J (2001). Research and treatment approaches to depression. Nature Rev Neurosci 2, 343–351

-Wu S, Comings DE (1999). A common C-1018G polymorphism in the human 5-HT1A receptor gene. Psychiatr Genet 9, 105–106.

-Wu Y, Xu Y, Sun Y, Wang YF, Li X, Lang XE, Wang WP, Zhang KR (2008). Association between the serotonin 1A receptor C(-1019)G polymorphism and major depressive disorder in the northern Han ethnic group in China. Chin Med J 121, 874–876.

-Yang Y, Raine A (2009). Prefrontal structural and functional brain imaging findings in antisocial, violent, and psychopathic individuals: a meta-analysis. Psychiatry Research 174 (2), 81–8. doi:10.1016/j.pscychresns.2009.03.012

-Yoshida K, Ito K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, Shimizu T, Itoh K, Inoue K, Tezuka T, Suzuki T, Ohkubo T, Sugawara K, Otani K (2002). Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 26, 383–386

-Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E (2000). Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. J Clin Psychopharmacol 20, 105–107.

-Zanardi R, Serretti A, Rossini D, Franchini L, Cusin C, Lattuada E, Dotoli D, Smeraldi E (2001). Factors affecting fluvoxamine antidepressant activity: influence of pindolol and 5-HTTLPR in delusional and nondelusional depression. Biol Psychiatry 50, 323–330.

-Zhang J, Chen Y, Zhang K, Yang H, Sun Y, Fang Y, Shen Y, Xu Q (2010). A cis-phase interaction study of genetic variants within the MAOA gene in major depressive disorder. Biol Psychiatry 68, 795–800.

-Zhang K, Xu Q, Xu Y, Yang H, Luo J, Sun Y, Sun N, Wang S, Shen Y (2009).The combined effects of the 5-HTTLPR and 5-HTR1A genes modulates the relationship between negative life events and major depressive disorder in a Chinese population. J Affect Disord 114, 224–231.

-Zhao S, Edwards J, Carroll J, Wiedholz L, Millstein RA, Jaing C, Murphy DL, Lanthorn TH, Holmes A (2006). Insertion mutation at the C-terminus of the serotonin transporter disrupts brain serotonin function and emotion-related behaviors in mice. Neuroscience 140, 321–334.

-Zhao Z, Zhang HT, Bootzin E, Millan MJ, O'Donnel JM (2009). Association of changes in norepinephrine and serotonin transporter expression with the long-term behavioral effects of antidepressant drugs. Neuropsychopharmacology 34, 1467–1481.