

# At risk for depression : the role of stress and serotonergic vulnerability

## Citation for published version (APA):

Firk, C. (2009). *At risk for depression : the role of stress and serotonergic vulnerability*. Datawysse / Universitaire Pers Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2009

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# SUMMARY

Affective disorders such as depression are one of the most common disease burdens throughout the world and are associated with severe medical consequences and mortality. Finding risk factors for depression is, therefore, a major challenge today. Among the different factors involved, a genetic predisposition appears to be a potential risk factor for the development of depression. Although the exact neurobiological equivalent of this genetic predisposition remains unclear, it seems as though the brain serotonin (5-HT) system plays an important mediating role. Evidence suggests that individuals with a serotonergic vulnerability, which has been defined as vulnerability or sensitivity of the serotonergic system to alterations or disruptions, have an increased risk of developing affective disorders that are related to the serotonergic system, such as depression (Jans et al., 2007). Serotonergic vulnerability has been postulated for individuals with a family history of depression (FH+) (Benkelfat et al., 1994; Klaassen et al., 1999) and for individuals with allelic variation in genes that encode 5-HT transporter proteins (5-HTTLPR polymorphism) that are critical in determining the overall level of serotonergic neurotransmission (e.g. Neumeister et al., 2002). A major problem, however, is that the role of brain 5-HT in depression is complex and that a 5-HT-related innate vulnerability, by itself, does not appear to be sufficient enough to cause a depressive episode. In the search for additional factors, stress has received particular attention. Stressful life events influence and precede the onset of depression. Furthermore, depression is associated with stress hormone dysregulation and bi-directional interactions are thought to occur between stress-related changes in the neuroendocrine stress system and the 5-HT system. Even though a variety of impressive epidemiological studies support this intriguing assumed interaction between stress, serotonergic vulnerability, and depression, this interaction has not yet been investigated in experimental designs. Therefore, the aim of this dissertation was to experimentally investigate the interaction between stress and serotonergic vulnerability as a risk factor for depression.

Different population groups that are suggested to have an increased risk of depression due to serotonergic vulnerability (i.e., those with a family history of depression, 5-HTTLPR s allele carriers, and individuals with a cognitive vulnerability to depression) were exposed to serotonergic manipulations (i.e., either increasing or reducing brain 5-HT) and acute stress to explore the interaction between serotonergic vulnerabil-

ity, stress, and depressive symptoms. In **Chapters 2, 3, and 4**, brain 5-HT synthesis and activity was lowered by acute tryptophan depletion (ATD), which reduces the amount of plasma tryptophan (TRP) relative to the sum of the other large neutral amino acids (LNAA) with which TRP competes for uptake into the brain (Fernstrom & Wurtman, 1972). This ATD was accomplished through administration of a balanced TRP-free amino acid mixture, which contains all essential amino acids except for TRP. This reduces the amount of plasma TRP as compared to the LNAA (TRP:LNAA ratio) and, thus, increases competition of the LNAA with which TRP competes for uptake into the brain (e.g. Gessa et al., 1974; Moja et al., 1991; Maes & Meltzer, 1995). In **Chapters 5 and 6**, brain 5-HT synthesis and activity was enhanced by increasing the plasma TRP:LNAA ratio through a hydrolyzed TRP-rich protein. To induce acute stress, the Markus-Peters computerized mental arithmetic task (MPA) was used in part of the experiments (**Chapters 2, 3, and 4**) and the Trier Social Stress Test (TSST) was used in **Chapter 6**. Both stress procedures have been frequently demonstrated to induce psychological and physiological stress (e.g. Kirschbaum et al., 1993; Markus et al., 2000b; Markus et al., 2002).

In **Chapter 2**, healthy individuals with a family history of depression (FH+) and healthy controls (FH-) were tested in a double-blind placebo-controlled design for affective processing under acute stress exposure following ATD or placebo. Acute stress reduced responsiveness to happy words, which has been previously demonstrated for depressed patients (Murphy et al., 1999; Deveney & Deldin, 2004; Erickson et al., 2005), supporting the hypothesis of stress as an important predecessor in the development of depression (Brown et al., 1987; Heim & Nemeroff, 2001; Van Praag, 2004). Data from this study further revealed that the negative effects of stress on (reducing) positive affective bias may depend on family history of depression and may be influenced by ATD and task-shifting. It was concluded that FH+ individuals may be more susceptible than FH- individuals to the negative effects of stress as well as to the negative effects of ATD.

In **Chapter 3**, we investigated the effects of ATD in subjects with different genetic 5-HTTLPR variants before and after stress exposure on affective processing. Subjects were genotyped for s allele and l allele 5-HTTLPR variants and monitored for affective processes before and after stress exposure either following ATD or placebo (PLC). Data revealed

fewer mistakes (omissions) during affective processing (on the affective go/no-go shift blocks) post-stress compared to pre-stress only in l/l genotype. Even though 5-HTTLPR genotype did not mediate the effects of ATD, affective processing in l allele homozygotes was less affected by acute stress relative to s allele homozygotes.

In **Chapter 4**, we investigated the effects of ATD in subjects with different genetic 5-HTTLPR profiles before and after stress exposure on affective and cognitive-attentional changes in a double-blind placebo-controlled crossover design. Contrary to the study described in **Chapter 3**, the current study accounted for the recently identified functional variants within the l allele of the 5-HTTLPR that may have underestimated the effects of 5-HTTLPR in previous studies (Hu et al., 2006; Zalsman et al., 2006). ATD lowered mood in all subjects independent of genotype. Only in S'/S' genotypes, mild acute stress increased depressive mood, whereas in L'/L' genotypes, it improved feelings of vigor. Furthermore, ATD impaired immediate recall of positive words only in S'/S' genotypes and S'/S' also differed from L'/L' genotypes on measures of attention independent of treatment. We concluded that 5-HTTLPR differentially mediates responses to mild stress and ATD, suggesting greater 5-HT vulnerability of S'/S' carriers to serotonergic manipulations and supporting increased depression vulnerability.

In **Chapter 5**, we explored whether a TRP-rich hydrolyzed protein has greater effects on the plasma TRP:LNAA ratio and mood in healthy volunteers and, thus, might be a better method to increase brain 5-HT in future studies than pure TRP and previously used intact TRP-rich alpha-lactalbumin whey protein. In a double-blind randomized cross-over study, plasma amino acids and mood were repeatedly measured before and after intake of intact alpha-lactalbumin and a TRP-rich hydrolyzed protein as well as after placebo protein, pure TRP, and a TRP-containing synthetic peptide. We found much greater (>250%) increases in plasma TRP:LNAA after the TRP-rich hydrolyzed protein than after intact alpha-lactalbumin (67%) and pure TRP (190%), and mood only improved following intake of the TRP-rich hydrolyzed protein and pure TRP. Based on this data, it was concluded that a TRP-rich hydrolyzed protein may be the most adequate method to increase brain TRP and 5-HT function in future studies.

In **Chapter 6**, we investigated the beneficial effects of a TRP-rich hydrolyzed protein on mood and stress coping in subjects with high and

low cognitive reactivity (CR) to depression. CR is the ease with which dysfunctional schemas are activated during sad mood, which is a trait marker for depression vulnerability. In a placebo-controlled double-blind crossover study, participants' mood and cortisol was assessed before and after acute stress exposure either following intake of a TRP-rich hydrolyzed protein or placebo. The TRP-rich hydrolyzed protein significantly increased positive mood in all subjects and dampened the cortisol response to the acute stressor. No differences were found between high and low CR subjects. We concluded that a TRP-rich hydrolyzed protein has beneficial effects on mood in healthy non-vulnerable subjects and improves stress coping (likely) by improving 5-HT-related stress resilience.

Based on the results of the studies reported in the different chapters, it was concluded (**Chapter 7**) that FH+ individuals and individuals with the 5-HTTLPR s allele are, indeed, more vulnerable to serotonergic manipulations than healthy non-vulnerable control participants. In addition, these serotonergic vulnerable subjects also exhibited enhanced susceptibility to the negative affective effects of acute stress exposure, supporting the assumed interaction between serotonergic vulnerability, stress, and depression. In further support of this theory, dietary-induced increases in brain 5-HT enhanced stress coping and mood in healthy subjects. Nevertheless, these interaction effects appeared to be small, which may be due to the mild nature of the stressors and should, therefore, be interpreted with caution, particularly regarding clinical relevance. Future research projects may include a more severe and sustained stress task or may focus on the development of experimental designs investigating the interaction between (early) stressful life events, serotonergic vulnerability, and depression.



# SAMENVATTING



Affectieve stoornissen zoals depressie behoren wereldwijd tot één van de meest voorkomende ernstige ziektes welke gepaard gaan met aanzienlijke medische consequenties en toenemende mortaliteit. Het vinden van risicofactoren voor het ontstaan van depressie wordt tegenwoordig dan ook gezien als één van de meest belangrijke uitdagingen binnen de psychologie en de biologische psychiatrie. Een van de veronderstelde potentiële risicofactoren voor depressie is een genetische kwetsbaarheid of predispositie. Hoewel de exacte neurobiologische basis van een dergelijke genetische predispositie nog onvoldoende duidelijk is, blijkt de serotonine (5-HT) neurotransmitter activiteit in de hersenen een belangrijke rol te spelen. Op grond van tal van onderzoeksbevindingen werd recentelijk een zogenaamde 'serotonerge gevoeligheid' voor depressie verondersteld. Hiermee duidt men op een toegenomen kwetsbaarheid binnen het serotonerge systeem dat het risico op affectieve stoornissen doet toenemen; in het bijzonder aandoeningen als depressie die in hoge mate gerelateerd zijn aan een verstoorde serotonerge werking (Jans et al., 2007). Dit zien we bijvoorbeeld bij mensen met een familiegeschiedenis van depressie (Benkelfat et al., 1994; Klaassen et al., 1999) of bij mensen met specifieke genotypische variaties binnen het serotonine transporter gen (5-HTTLPR polymorfisme) (o.a. Neumeister et al., 2002). Het grote probleem is echter dat de rol van 5-HT in depressie verre van eenduidig is en dat een depressieve aandoening niet direct kan worden toegeschreven aan louter een (aangeboren) serotonerge gevoeligheid. Nieuw recent onderzoek doet echter vermoeden dat een serotonerge kwetsbaarheid niet zozeer direct maar voornamelijk onder stress de kans op een depressie aanzienlijk zal vergroten. Deze interessante veronderstelling past goed bij algemeen geaccepteerde bevindingen dat stressvolle gebeurtenissen veelal vooraf gaan aan de ontwikkeling van een depressie en dat dit wordt toegeschreven aan verstoorde interacties tussen het neuroendocriene stress system en het serotonerge system. Hoewel een dergelijke interactie tussen stress, serotonerge gevoeligheid en depressie wordt ondersteund door verschillende epidemiologische studies, werd deze interactie nog niet experimenteel onderzocht. Doelstelling van dit proefschrift is dan ook om de veronderstelde interactie tussen stress en serotonerge gevoeligheid als risicofactor voor depressie experimenteel te onderzoeken en te toetsen binnen een reeks van humane studies.

Om de interactie tussen stress, serotonerge gevoeligheid en depressie te onderzoeken werden gezonde proefpersonen met een veronderstelde depressieve en serotonerge gevoeligheid vanuit verschillende kwetsbare populaties (eerstegraads familieleden van depressieve patiënten, 5-HTTLPR s-allel dragers, en individuen met een verhoogde depressieve reactiviteit) getest na serotonine verhogende (TRP-suppletie) en verlagende (TRP depletie) manipulaties.

In de studies beschreven in **hoofdstukken 2, 3, en 4** werd de 5-HT synthese en activiteit verlaagd aan de hand van de acute tryptofaan depletie (ATD) methode waarbij proefpersonen een aminozuur drankje nuttigen bestaande uit alle essentiële aminozuren met uitzondering van tryptofaan (TRP: precursor van serotonine). Inname van dit drankje veroorzaakt een drastische afname van de hoeveelheid beschikbare plasma TRP ten opzichte van de andere concurrerende aminozuren of LNAAs (TRP:LNAA ratio) voor opname in de hersenen waardoor een drastische serotonine depletie plaatsvindt (o.a. Gessa et al., 1974; Moja et al., 1991; Maes & Meltzer, 1995). In de studies beschreven in **hoofdstukken 5 en 6**, werd de 5-HT synthese juist gestimuleerd door de hoeveelheid beschikbare plasma TRP voor opname in de hersenen te verhogen via consumptie van gehydrolyseerde TRP-rijke eiwitten. Om acute stress te induceren werd zowel de Markus-Peters computergestuurde mentale rekentaak (MPA: **hoofdstuk 2, 3, en 4**) als de Trier Social Stress Test (TSST: **hoofdstuk 6**) gebruikt. Beide stress procedures worden standaard gebruikt voor de inductie van psychologische en fysiologische stress (o.a. Kirschbaum et al., 1993; Markus et al., 2000b; Markus et al., 2002).

In **hoofdstuk 2** werden gezonde proefpersonen met (FH+) of zonder (FH-) een familiere (serotonerge) gevoeligheid voor depressie getest op affectieve veranderingen onder acute stress na ATD of placebo. Resultaten laten zien dat acute stress de responsiviteit op positieve woorden vertraagd; hetgeen ook eerder is waargenomen bij depressieve mensen (Murphy et al., 1999; Deveney & Deldin, 2004; Erickson et al., 2005). Deze bevindingen ondersteunen de hypothese dat stress een belangrijke voorloper is bij het ontstaan van depressie (Brown et al., 1987; Heim & Nemeroff, 2001; Van Praag, 2004). Onderzoekresultaten laten vervolgens zien dat deze negatieve effecten van stress op positieve woordherkenning (affectieve bias) afhankelijk is van familiegeschiedenis van depressie en tevens beïnvloedt wordt door ATD. Uitgaande van de aanname dat personen met een familiere geschiedenis van depressie (FH+)

serotonerg gevoeliger zijn dan controle proefpersonen (FH-), wordt op grond van deze uitkomsten verondersteld dat FH+ individuen gevoeliger zijn voor de negatieve effecten van stress en serotonine depletie vanwege een verlaagde of aflatende serotonerge functionaliteit.

In **hoofdstuk 3** zijn de affectieve effecten van ATD en stress getest bij proefpersonen met en zonder een veronderstelde genetisch-veroorzaakte serotonerge gevoeligheid. Proefpersonen werden gescreend en genotypisch gerangschikt op de aanwezigheid van het korte (s) of lange (l) allel binnen het zogenaamde '5-HT transporter linked polymorphic region' (5-HTTLPR). Vervolgens werden bij de serotonerge gevoelige (s-allel 5-HTTLPR) en controle (l-allel) proefpersonen depressie-gerelateerde affectieve processen gemeten voor en na blootstelling aan acute stress na ATD of placebo (PLC). Bevindingen laten zien dat mensen met het l-allel (controle proefpersonen) minder fouten maken tijdens affectieve verwerking onder acute stress (op de affectieve go/no-go shift blocks) dan mensen met het serotonerg gevoelige s-allel. Hoewel er geen interactie tussen 5-HTTLPR en ATD werd gevonden, blijken affectieve processen in l-allel genotypen dus minder negatief beïnvloed te worden door acute stress dan in s-allel genotypen. Met andere lijkt de afwezigheid van genetische serotonerge gevoeligheid (in l-allel dragers) juist bescherming te bieden tegen de negatieve affectieve effecten van stress.

In **hoofdstuk 4** werden eveneens de effecten van ATD en stress getest op verschillende depressie-gerelateerde cognitieve en affectieve veranderingen bij mensen met verschillende genetisch gevoelige 5-HTTLPR profielen. In tegenstelling tot de vorige studie, werd hierbij rekening gehouden met een recentelijk geïdentificeerde functionele variant binnen het l-allel 5-HTTLPR (de zogenaamde Lg variant) dat overeenkomt met het s-allel (en waardoor eerdere bevindingen van 5-HTTLPR onderschat zouden kunnen zijn; Hu et al., 2006; Zalsman et al., 2006). ATD verlaagde de stemming bij alle proefpersonen, onafhankelijk van genotype. Echter, acute stress veroorzaakte alleen in s-allel (S'/S') genotypen een depressieve stemming, terwijl stress in l-allel (L'/L') genotypen juist de positieve stemming verhoogde. Bovendien verslechterde ATD de directe herinnering (immediate recall) van positieve woorden alleen in s-allel (S'/S') genotypen maar niet in l-allel (L'/L') genotypen en vertoonde de s-allel genotypen afwijkende aandachtsprocessen ten opzichte van l-allel genotypen. Deze bevindingen ondersteunen wederom

de aanname dat s-allel 5-HTTLPR genotypen gevoeliger zijn voor de negatieve affectieve effecten van stress en ATD en dus tevens de aanname dat 5-HTTLPR de serotonerge gevoeligheid beïnvloed.

In **hoofdstuk 5** werd gekeken of een TRP-rijk proteïne hydrolysaat grotere effecten heeft op de beschikbare tryptofaan voor opname in de hersenen (grotere stijging van de plasma TRP:LNAA ratio en dus 5-HT) en de stemming in gezonde vrijwilligers dan intacte alpha-lactalbumine proteïne. Het belang van deze studie was om te komen tot een betere suppletie methode ter verhoging van serotonine in de hersenen zodat deze methode vervolgens in volgende studies kan worden toegepast. In deze studie werd de beschikbare plasma TRP (in vergelijking met de andere aminozuren; TRP/LNAA ratio) en stemming herhaaldelijk gemeten voor en na inname van intacte TRP-rijke alpha-lactalbumine proteïne, gehydrolyseerde TRP-rijke proteïne, pure TRP, een synthetische TRP-rijk peptide en een placebo proteïne. Resultaten laten een aanzienlijke hogere stijging in de plasma TRP:LNAA ratio zien na inname van het gehydrolyseerde TRP-rijke proteïne in vergelijking met intacte TRP-rijke alpha-lactalbumine proteïne en zelf pure TRP. Verder werd een verbetering van de stemming geconstateerd alleen na inname van het gehydrolyseerde TRP-rijke proteïne en pure TRP. Gebaseerd op deze bevindingen werd geconcludeerd dat een gehydrolyseerde TRP-rijke proteïne de meest adequate methode is om de TRP:LNAA ratio, en dus de TRP en 5-HT in de hersenen, te verhogen.

In **hoofdstuk 6** werden de positieve effecten van een TRP-rijk proteïne hydrolysaat op stemming en stress coping getest bij proefpersonen met een hoge of lage cognitieve reactiviteit (CR) voor depressie. Cognitieve reactiviteit is een gebruikelijke vertaling van het gemak waarmee negatieve zogenaamde 'dysfunctionele' gedachten of cognitieve depressogene schema's worden geactiveerd tijdens onplezierige stemmingsverlagende momenten; hetgeen kenmerkend is voor depressiegevoeligheid. Als gevolg hiervan, in aanvulling op proefpersonen met een familiäre depressieve geschiedenis of met een s-allel 5-HTTLPR zoals gehanteerd in de vorige studies, worden proefpersonen met een hoge CR ook verondersteld serotonerg gevoelig te zijn. In deze studie werd eveneens de stemming en de stress responsiviteit gemeten voor en na acute stress; echter nu na 5-HT suppletie middels inname van een TRP-rijk proteïne hydrolysaat (in vergelijking met een placebo). In tegenstelling tot placebo, verbeterde de inname van het TRP-rijk proteïne hy-

drolysaat zowel de stemming als de stress coping (lagere stress cortisol response) in alle proefpersonen ongeacht de CR. Deze gunstige effecten van het TRP-rijk proteïne hydrolysaat op de stresscoping werden toegeschreven aan een verbeterde 5-HT functionaliteit. De afwezigheid van een effect van CR werd toegeschreven aan de mogelijkheid dat CR in mindere mate dan bijvoorbeeld 5-HTTLPR een serotonerge gevoeligheid typeert.

Op grond van de resultaten van onderzoeken die in de verschillende hoofdstukken zijn gerapporteerd, werd geconcludeerd (**hoofdstuk 7**) dat gezonde mensen met een familiale geschiedenis van depressie (FH+) of met een s-allel 5-HTTLPR gevoeliger reageren op serotonerge manipulaties dan controle proefpersonen. Ook blijken zij gevoeliger of vatbaarder te zijn voor de negatieve effecten van acute stress. Deze bevinding ondersteunen niet alleen de aanname dat familiale geschiedenis van depressie en 5-HTTLPR serotonerge gevoeligheid stimuleert voor stress en depressie, maar juist ook dat een dergelijke gevoeligheid met name onder stress de kans op depressie zou kunnen vergroten. Verder blijkt het aannemelijk dat dieetgeïnduceerde verhogingen in 5-HT stress coping en stemming verbeteren en dat het mogelijk zou kunnen zijn dat dit nog gunstiger werkt bij mensen met een familiale en/of genetisch serotonine gevoeligheid (dit is in het huidige proefschrift niet onderzocht). De in dit proefschrift gevonden interactie effecten tussen serotonine gevoeligheid, stress en depressie zijn niettemin klein, wat veroorzaakt zou kunnen zijn door de relatief milde aard van de gehanteerde stressoren en zou daarom voorzichtig geïnterpreteerd moeten worden (met name omtrent klinische relevantie). Als vervolg op de huidige studies, zou toekomstig onderzoek daarom dan ook een meer krachtige of realistische stressinductie taak moeten includeren en zich tevens moeten gaan richten op de interactie tussen (vroeg) chronische stressvolle levensgebeurtenissen, serotonerge gevoeligheid en depressie.