

La teoria della serotonina della depressione: una revisione sistematica a ombrello

(tabelle e figure da pag. 9)



L'ipotesi serotoninergica della depressione è ancora autorevole. L'obiettivo di questa ricerca è quello di sintetizzare e valutare le prove sul fatto che la depressione sia associata ad una ridotta concentrazione o ad una ridotta attività della serotonina tramite una revisione sistematica ad ombrello delle principali aree rilevanti di ricerca. Sono state interrogate le banche dati PubMed, EMBASE e PsycINFO utilizzando termini appropriati per ciascuna area di ricerca, sin dal loro inizio fino al dicembre 2020. Sono state identificate e selezionate revisioni sistematiche, meta-analisi e analisi di grandi set di dati nelle seguenti aree: concentrazioni nei fluidi corporei della serotonina e del suo metabolita 5-HIAA; legame con il recettore della serotonina 5-HT1A; livelli, misurati mediante imaging o in studi post mortem, del trasportatore della serotonina (SERT); studi di deplezione del triptofano; associazioni geniche SERT e interazioni di SERT tra il gene e l'ambiente. Sono stati esclusi dalla ricerca studi sulla depressione associata a condizioni fisiche e sottotipi specifici di depressione (es. depressione bipolare). Due revisori indipendenti hanno estratto i dati e valutato la qualità degli studi inclusi utilizzando gli strumenti AMSTAR-2, una versione adattata di AMSTAR-2 e STREGA per un ampio studio genetico. È stata valutato il grado di certezza dei risultati dello studio utilizzando una versione modificata di GRADE. Non abbiamo sintetizzato i risultati delle singole meta-analisi perché includevano studi sovrapposti. La revisione è stata registrata nel database PROSPERO (CRD42020207203). Sono stati inclusi 17 studi: 12 revisioni sistematiche e meta-analisi, 1 meta-analisi sui dati dei singoli pazienti, 1 meta-analisi di ampi studi di coorte, 1 revisione sistematica e sintesi narrativa, 1 studio di associazione genetica e 1 revisione ad ombrello. La qualità delle revisioni era variabile, con alcuni studi genetici di alta qualità. Due meta-analisi di studi sovrapposti che hanno esaminato il metabolita della serotonina 5-HIAA, non hanno mostrato alcuna associazione con depressione (n più grande = 1002). Una meta-analisi di studi di coorte sulla serotonina plasmatica non ha mostrato alcuna associazione con la depressione, e ha evidenziato che una ridotta concentrazione di serotonina è associata all'uso di antidepressivi (n = 1869). Due meta-analisi di studi sovrapposti che hanno esaminato il recettore 5-HT1A (n più grande = 561) e tre meta-analisi di studi sovrapposti che esaminano il legame con SERT (n più grande = 1845) hanno mostrato prove deboli e incoerenti di un legame ridotto in alcune aree, il che sarebbe coerente con una maggiore disponibilità sinaptica di serotonina nelle persone con depressione, se questa fosse l'anomalia causale originale. Tuttavia, non è stato possibile escludere in modo affidabile l'effetto del precedente uso di antidepressivi. Una meta-analisi degli studi di deplezione del triptofano non ha evidenziato nessun effetto nella maggior parte dei volontari sani (n = 566), ma una debole evidenza di un effetto nei volontari con una storia familiare di depressione (n = 75). Un'altra revisione sistematica (n = 342) e un campione di dieci studi successivi (n = 407) non hanno riscontrato alcun effetto nei volontari. Nessuna revisione sistematica di studi di deplezione del triptofano è stata eseguita dal 2007. I due studi più grandi e di più alta qualità del gene SERT, uno studio di associazione genetica (n = 115.257) e una meta-analisi sui dati dei singoli pazienti (n = 43.165), non hanno rivelato alcuna evidenza di associazione con la depressione, o di un'interazione tra genotipo, stress e depressione. Le principali aree di ricerca sulla serotonina non forniscono prove coerenti dell'esistenza di un'associazione tra serotonina e depressione e non supportano l'ipotesi che la depressione è causata da una ridotta attività o concentrazione della serotonina. Alcune prove sono coerenti con la possibilità che l'uso a lungo termine di antidepressivi riduca la concentrazione di serotonina.

INTRODUZIONE

L'idea che la depressione sia il risultato di un'anomalia chimica nel cervello, in particolare della serotonina (5-idrossitriptamina o 5-HT), è stata influente per decenni e fornisce un'importante giustificazione per l'uso di antidepressivi. Un legame tra la riduzione della serotonina e la depressione è stata suggerito per la prima volta negli anni '60 [1] e ampiamente pubblicizzato dagli anni '90 con l'avvento degli antidepressivi inibitori selettivi della ricaptazione di serotonina (SSRI) [2-4]. Anche se questa ipotesi è stata messa in discussione recentemente [5, 6], la teoria serotoninergica della depressione rimane influente, citata nei principali libri di testo in lingua inglese [7, 8], un'ipotesi accreditata dai principali ricercatori [9-11] con molta

ricerca empirica basata su questa ipotesi [11–14]. Dei sondaggi suggeriscono che l'80% o più del pubblico in generale crede che la depressione sia causata da uno "squilibrio chimico" [15, 16]. Anche molti medici generici condividono questo punto di vista [17] e siti web popolari citano comunemente la teoria [18].

Si presume spesso che gli effetti degli antidepressivi dimostrino che la depressione deve essere almeno in parte causata da un'anomalia chimica del cervello, e che l'apparente efficacia degli SSRI sia una prova che la serotonina è implicata. Tuttavia, sono state proposte altre spiegazioni per rendere conto degli effetti degli antidepressivi, inclusa l'idea che funzionino tramite un effetto placebo amplificato o attraverso la loro capacità di inibire o attutire le emozioni in generale [19, 20].

Nonostante il fatto che la teoria della riduzione della serotonina come causa della depressione sia così influente, non esiste una revisione completa che sintetizzi le prove pertinenti. Abbiamo condotto una revisione ombrello delle principali aree di ricerca rilevanti, seguendo il modello di una revisione simile che esamina i potenziali biomarcatori predittivi del disturbo depressivo maggiore [21]. Abbiamo cercato di stabilire se le prove a disposizione supportano un ruolo della serotonina nell'eziologia della depressione, e in particolare se la depressione è associata ad una ridotta concentrazione o attività della serotonina.

METODI

Strategia di ricerca e criteri di selezione

La presente revisione ad ombrello è stata eseguita in conformità con la dichiarazione PRISMA del 2009 [22]. Il protocollo è stato registrato sul database PROSPERO nel dicembre 2020 (numero di iscrizione CRD42020207203) (https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=207203). Il protocollo è stato successivamente aggiornato per riflettere la nostra decisione di valutare in modo più appropriato la qualità di alcuni studi, e per includere un GRADE modificato per valutare la certezza complessiva dei risultati in ciascuna categoria della revisione ombrello.

Per coprire le diverse aree e per gestire l'ampio volume di ricerca condotto sulla serotonina, abbiamo condotto una revisione ad ombrello. Le revisioni ombrello indagano le revisioni sistematiche esistenti e le meta-analisi rilevanti per un interrogativo di ricerca e rappresentano uno dei più alti livelli di sintesi delle prove a disposizione [23]. Sebbene siano tradizionalmente limitate a revisioni sistematiche e meta-analisi, abbiamo identificato tutte le migliori prove disponibili. Pertanto, abbiamo incluso anche alcuni studi di grandi dimensioni che hanno combinato i dati di singoli studi senza utilizzare metodi di revisione sistematica convenzionale e uno studio genetico di grandi dimensioni. Quest'ultimo studio ha utilizzato un database nazionale per acquisire più individui rispetto a delle meta-analisi, e potrebbe offrire delle prove più affidabili rispetto alla sintesi degli studi individuali.

Per prima cosa abbiamo condotto una revisione di scopo, per determinare la copertura di un corpo di letteratura e identificare le aree di ricerca che forniscono supporto all'ipotesi della serotonina come causa della depressione. Sono state individuate sei aree, che hanno indagato le seguenti questioni: (1) serotonina e metabolita della serotonina 5-HIAA - se ci sono livelli più bassi di serotonina e di 5-HIAA nei fluidi corporei dei pazienti affetti da depressione; (2) recettori - se i livelli dei recettori della serotonina sono alterati nelle persone con depressione; (3) il trasportatore della serotonina (SERT) - se nelle persone affette da depressione sono presenti livelli più alti del trasportatore della serotonina (che causerebbero bassi livelli sinaptici di serotonina); (4) studi di deplezione - se la deplezione del triptofano (che riduce la serotonina disponibile) può indurre depressione; (5) gene SERT - se sono presenti livelli aumentati del gene del trasportatore della serotonina nelle persone con depressione; (6) se esiste un'interazione tra il gene SERT e lo stress nella depressione.

Abbiamo cercato revisioni sistematiche, meta-analisi e studi di grandi dimensioni in queste sei aree interrogando i database PubMed, EMBASE e PsycINFO e utilizzando lo strumento di ricerca avanzata nei database sanitari fornito dall'Health Education England e dal NICE (National Institute for Health and Care Excellence). Le ricerche sono state condotte fino a dicembre 2020.

Abbiamo utilizzato i seguenti termini in tutte le ricerche: (depress* OR affective OR mood) AND (systematic OR meta-analysis) limitando le ricerche al titolo ed all'abstract, poiché una ricerca così estesa produce molti studi irrilevanti. Inoltre, abbiamo utilizzato termini specifici per ciascuna area di ricerca (i dettagli completi sono forniti nella tabella S1 del materiale supplementare). Abbiamo anche valutato citazioni rilevanti e ci siamo consultati con esperti.

I criteri di inclusione sono stati progettati per identificare le migliori prove disponibili in ciascuna area di ricerca e consistono in:

1. Sintesi della ricerca comprendente revisioni sistematiche, meta-analisi, revisioni ombrello, meta-analisi dei singoli pazienti e analisi di grandi dataset.
2. Studi che coinvolgono persone con disturbi depressivi o, nel caso degli studi sperimentali di deplezione del triptofano, quelli in cui i sintomi dell'umore sono misurati come risultato.
3. Studi di procedure sperimentali (deplezione del triptofano) che sono confrontati con una procedura fittizia o un controllo.
4. Studi pubblicati integralmente nella letteratura.
5. Qualora esistano più di cinque revisioni sistematiche o ampie analisi, sono state incluse le cinque più recenti.

I criteri di esclusione consistevano in:

1. Studi sugli animali.
2. Studi riguardanti esclusivamente la depressione in certe condizioni (es. post ictus o morbo di Parkinson) o che si focalizzano esclusivamente su sottotipi specifici di depressione come la depressione post-partum, la depressione nei bambini o la depressione nel disturbo bipolare.

Non sono state applicate restrizioni di lingua o data. Nelle aree di ricerca in cui negli ultimi 10 anni non è stata effettuata nessuna revisione sistematica o meta-analisi, abbiamo anche selezionato i dieci studi più recenti per l'illustrare i riscontri più attuali. Abbiamo eseguito questa ricerca utilizzando la stessa stringa di ricerca per questo dominio, senza limitarlo a revisioni sistematiche e meta-analisi.

Analisi dei dati

Ad ogni membro del team sono stati assegnati da uno a tre domini di ricerca sulla serotonina per cercare e selezionare gli studi ammissibili utilizzando l'abstract ed il testo completo. In caso di incertezza, l'intero team di ricerca ha discusso dell'inclusione dello studio tramite consenso.

Per gli studi inclusi, i dati sono stati estratti da due revisori che hanno lavorato in modo indipendente e il disaccordo è stato risolto tramite consenso. Gli autori degli articoli sono stati contattati per chiarimenti in caso di dati poco chiari o mancanti.

Abbiamo estratto dagli articoli la sintesi degli intervalli di confidenza e le misure di significatività statistica dove questi sono stati riportati e, quando pertinente, abbiamo estratto i dati sull'eterogeneità. Per la sintesi degli effetti negli studi non genetici, abbiamo estratto e riportato la dimensione degli effetti. Le differenze medie erano convertite in dimensioni dell'effetto laddove erano disponibili dati appropriati.

Non abbiamo eseguito una meta-analisi delle singole meta-analisi in ciascuna area perché includevano studi sovrapposti [24]. I dati estratti sono presentati nella Tabella 1. Le analisi di sensibilità sono state riportate quando avevano un peso sostanziale sull'interpretazione dei risultati.

La valutazione della qualità delle revisioni sistematiche e delle meta-analisi è stata fatta utilizzando AMSTAR-2 (A Measurement Tool to Assess Systematic Reviews) [25]. Per due studi che non hanno impiegato metodi convenzionali di revisione sistematica [26, 27] abbiamo usato una versione modificata dell'AMSTAR-2 (vedi tabella S3). Per lo studio di associazione genetica basato sull'analisi di un database di grandi dimensioni abbiamo utilizzato il sistema di valutazione STRENGTH (Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies) (Tabella S4) [28]. Ciascuno studio è stato valutato indipendentemente da almeno due autori. Abbiamo riportato il punteggio degli elementi individuali sulle misure rilevanti e la percentuale degli elementi che sono stati adeguatamente affrontati in ciascuno studio (Tabella 1, con maggiori dettagli nelle Tabelle S3 e S4). Oltre alle valutazioni della qualità, due membri del team (JM, MAH) hanno valutato la certezza dei risultati di ogni studio utilizzando una versione modificata delle linee guida GRADE [29]. Seguendo l'approccio di Kienis et al. [21], abbiamo ideato sei criteri rilevanti per l'inclusione degli studi: se è stata condotta un'analisi unificata sui dati originali; se il confondimento dovuto all'uso degli antidepressivi era adeguatamente preso in considerazione; se i risultati erano pre-specificati; se i risultati erano coerenti o se l'eterogeneità, se presente, è stata adeguatamente presa in considerazione; se esisteva la probabilità di un bias di pubblicazione; e la dimensione del campione. L'importanza del confondimento dovuto agli effetti dell'uso attuale o passato di antidepressivi è stata evidenziata in diversi studi [30, 31]. I risultati di ogni studio sono stati valutati 1 o 0, a seconda se soddisfacevano ciascun criterio e, basandosi su questa valutazione, è stato espresso un giudizio complessivo sulla certezza delle prove degli studi in ciascuna delle sei aree di ricerca esaminate. La certezza di ogni studio si basava su un algoritmo che dava la priorità alla dimensione del campione e all'uniformità delle analisi utilizzando i dati originali (una spiegazione più dettagliata è presente nel materiale supplementare), seguendo il parere che questi aspetti sono fondamentali nell'affidabilità di uno studio [27, 32]. Una valutazione della certezza complessiva

di ogni ambito di ricerca che esamina il ruolo della serotonina è stata determinata dal consenso di almeno due autori ed è stata indicata una direzione dell'effetto.

RISULTATI

Risultati della ricerca e valutazione della qualità

La ricerca ha identificato 361 studi nelle 6 diverse aree di ricerca, e tra questi 17 studi erano adeguati per i criteri di inclusione (vedi Fig. 1 e Tabella S1 per i dettagli del processo di selezione).

Gli studi inclusi, le loro caratteristiche, ed i risultati, sono mostrati nella Tabella 1. Poiché negli ultimi 10 anni non è stata effettuata nessuna revisione sistematica o meta-analisi degli studi di deplezione della serotonina, abbiamo identificato i 10 studi più recenti per l'illustrare i risultati della ricerca (Tabella 2).

Le valutazioni di qualità sono riassunte nella Tabella 1 e riportate in dettaglio nelle Tabelle S2-S3. La maggior parte (11/17) delle revisioni sistematiche e delle meta-analisi soddisfano meno del 50% dei criteri. Solo il 31% degli studi valuta adeguatamente il rischio di distorsione nei singoli studi (un ulteriore 44% lo valuta solo in parte) e solo il 50% ha tenuto in considerazione il rischio di distorsione nell'interpretazione dei risultati della revisione. Una meta-analisi collaborativa di studi genetici è stata considerata di alta qualità per l'inclusione di diverse misure atte a garantire la consistenza dei dati e l'affidabilità dei risultati [27]. La grande analisi genetica sull'effetto dei polimorfismi di SERT sulla depressione ha soddisfatto l'88% dei criteri di qualità STREGA [32].

Serotonina e 5-HIAA

La serotonina può essere misurata nel sangue, nel plasma, nell'urina e nel liquor, ma viene rapidamente metabolizzata in acido 5-idrossiindolacetico (5-HIAA). Il liquor è considerato la risorsa ideale per lo studio dei biomarcatori di ipotetiche malattie cerebrali, poiché è in contatto con il liquido interstiziale cerebrale [33]. Tuttavia, dato che la raccolta di campioni di liquor è invasiva e comporta potenziali rischi, gli studi che coinvolgono un numero elevato di persone sono scarsi. Tre studi hanno soddisfatto i criteri di inclusione (Tabella 1). Una meta-analisi di tre ampi studi di coorte su donne in postmenopausa, ha rivelato livelli più bassi di 5-HT plasmatico in donne affette da depressione, che però, dopo l'aggiustamento per multipli confondimenti, non ha raggiunto una significatività statistica di $p < 0,05$. Le analisi di sensibilità hanno rivelato che gli antidepressivi erano fortemente associati a livelli di serotonina più bassi indipendentemente dalla depressione. Due meta-analisi di un totale di 19 studi di 5-HIAA nel liquor (sette studi sono stati inclusi in entrambe le meta-analisi) non hanno provato un'associazione tra concentrazioni di 5-HIAA e depressione.

Recettori

Sono stati identificati quattordici diversi recettori della serotonina, con la maggior parte delle ricerche sulla depressione che si è focalizzata sul recettore 5-HT_{1A} [11, 34]. Poiché le funzioni di altri recettori della serotonina e la loro relazione con la depressione non sono state ben caratterizzate, abbiamo limitato la nostra analisi ai dati sui recettori 5-HT_{1A} [11, 34]. I recettori 5-HT_{1A}, noti come auto-recettori, inibiscono il rilascio di serotonina a livello pre-sinaptico [35], quindi, se la depressione è il risultato della ridotta attività della serotonina causata da anomalie nel recettore 5-HT_{1A}, ci si aspetterebbe che le persone con depressione mostrino una maggiore attività dei recettori 5-HT_{1A} rispetto alle persone senza depressione [36].

Due meta-analisi, in cui cinque studi sono stati inclusi in entrambe, hanno soddisfatto i criteri di inclusione [37, 38] (vedi Tabella 1). La maggior parte dei risultati delle due analisi suggerisce che non ci sia differenza nei recettori 5-HT_{1A} tra le persone con depressione ed i controlli, oppure che il livello di questi recettori sia più basso, il che implicherebbe concentrazioni o attività serotoninergica maggiore nelle persone con depressione.

Entrambe le meta-analisi erano basate su studi che coinvolgevano prevalentemente pazienti che stavano assumendo o che avevano di recente assunto (entro 1-3 settimane) antidepressivi o altri tipi di farmaci psichiatrici ed in entrambi i casi gli autori hanno commentato la possibile influenza dei farmaci sui risultati sperimentali. Inoltre, una delle analisi è stata di qualità molto bassa [37], tra le altre cose non venivano rendicontati i numeri coinvolti in ciascuna analisi, venivano utilizzati nell'analisi test p-value unilaterali, e l'altra meta-analisi era fortemente influenzata da tre studi e presentava un bias di pubblicazione [38].

Il trasportatore della serotonina (SERT)

La proteina trasportatrice della serotonina (SERT) trasporta la serotonina fuori dalla sinapsi, riducendo quindi la disponibilità di serotonina nella sinapsi [39, 40]. Animali con un gene inattivato per SERT mostrano livelli più elevati di serotonina extracellulare nel cervello rispetto al normale

[41–43] e si pensa che gli SSRI agiscano inibendo l'azione di SERT, e quindi aumentando i livelli di serotonina nello spazio inter-sinaptico [44]. Sebbene i cambiamenti nel SERT possano essere un indicatore per altre anomalie, se la depressione fosse causata da un basso livello dell'attività o della disponibilità della serotonina, e se il trasportatore SERT fosse all'origine del deficit, l'attività o la quantità di SERT dovrebbe essere maggiore nelle persone affette da depressione rispetto a quelle senza depressione [40]. Il potenziale di legame di SERT è un indice della concentrazione di SERT e le concentrazioni di SERT possono essere misurate post mortem.

Tre meta-analisi che si sovrappongono, basate su un totale di 40 studi individuali, soddisfano i criteri di inclusione stabiliti (vedi tabella 1) [37, 39, 45]. Nel complesso, i dati indicano una possibile riduzione del potenziale di legame del SERT in alcune aree del cervello, sebbene le aree in cui si verificavano gli effetti rilevati non erano coerenti tra le revisioni. Inoltre, gli effetti degli antidepressivi e di altri farmaci non possono essere esclusi, dal momento che la maggior parte degli studi includeva principalmente o esclusivamente persone che avevano una storia di assunzione di antidepressivi o di altri farmaci psichiatrici. Solo una meta-analisi ha testato gli effetti dei farmaci antidepressivi e, sebbene i risultati non siano stati influenzati dalla percentuale di pazienti che non avevano mai assunto farmaci, in ogni studio il numero dei soggetti era piccolo, ed è improbabile che gli effetti correlati ai farmaci siano stati rilevati in maniera affidabile [45]. Tutte e tre le revisioni hanno citato prove derivate da studi sugli animali che il trattamento antidepressivo riduce la SERT [46–48]. Nessuna delle analisi ha eseguito correzioni per confronti multipli e una revisione è risultata di qualità molto bassa [37].

Se i risultati rappresentano un risultato positivo indipendente dall'assunzione di farmaci, suggerirebbero che la depressione sia associata ad attività o concentrazioni più elevate di serotonina.

Studi di deplezione

La deplezione del triptofano, utilizzando mezzi dietetici o sostanze chimiche quali la paraclorofenilalanina (PCPA), riduce i livelli di serotonina. Poiché il PCPA è potenzialmente tossico, la deplezione reversibile di triptofano utilizzando bevande di aminoacidi senza triptofano è il metodo più comunemente usato, che influisce sulla serotonina entro 5–7 h dall'ingestione. Resta aperta comunque la questione se entrambi i metodi riducono in modo affidabile la serotonina cerebrale e se possono essere prodotti altri effetti, tra cui cambiamenti nell'ossido nitrico nel cervello, cambiamenti cerebrovascolari, riduzione del BDNF e squilibri degli aminoacidi che potrebbero spiegare gli effetti osservati indipendentemente dai possibili cambiamenti dell'attività della serotonina [49].

Una meta-analisi e una revisione sistematica hanno soddisfatto i criteri di inclusione (vedi tabella 1). Dati derivati da studi che coinvolgono volontari per lo più non hanno mostrato alcun effetto, inclusa una meta-analisi di gruppi di studi in parallelo [50]. In una piccola meta-analisi di studi in cui i partecipanti sono esposti sia alla deplezione che al placebo, che ha coinvolto 75 persone con una storia familiare di depressione, è stato riscontrato un effetto minore, con le persone soggette alla deplezione che mostravano una diminuzione dell'umore maggiore rispetto ai soggetti della procedura placebo [50]. In entrambe le revisioni, in generale gli studi che coinvolgono persone con diagnosi di depressione mostrano una riduzione dell'umore leggermente maggiore in seguito alla deplezione del triptofano rispetto al trattamento con il placebo, ma la maggior parte dei partecipanti avevano assunto o stavano assumendo antidepressivi ed il numero dei partecipanti era piccolo [50, 51].

Dal momento che queste sintesi di ricerca sono state condotte più di 10 anni fa, abbiamo identificato un campione sistematico di dieci studi pubblicati recentemente (Tabella 2). Otto studi condotti con volontari sani non hanno mostrato effetti della deplezione del triptofano sull'umore, compresi gli unici due studi di gruppo paralleli. Uno studio ha studiato l'effetto della deplezione in persone con e senza una storia familiare di depressione e non ha evidenziato nessuna differenza nei due gruppi [52]. Due studi incrociati che coinvolgono persone con depressione e l'uso attuale o recente di antidepressivi non ha mostrato effetti convincenti dopo l'assunzione della bevanda depleta di triptofano [53, 54], sebbene uno studio sia segnalato come positivo principalmente per aver riscontrato un miglioramento nello stato d'animo nel gruppo a cui è stata somministrata la bevanda placebo [54].

Gene SERT e interazioni gene-stress

È stata proposta una possibile associazione tra la depressione e la lunghezza della ripetizione del polimorfismo nella regione del promotore del gene SERT (5-HTTLPR), in particolare la presenza della versione a ripetizioni brevi che determina una ridotta espressione di mRNA SERT [55]. È interessante notare che livelli più bassi di SERT produrrebbero livelli più elevati di serotonina sinaptica. Tuttavia, più recentemente, questa ipotesi è stata sostituita da un focus sull'effetto di interazione tra questo polimorfismo, la depressione e lo stress, con l'idea che la versione più breve del poli-

morfismo può dar luogo a depressione solo in presenza di eventi di vita stressanti [55, 56].

A differenza di altre aree di ricerca sulla serotonina, in questo ambito sono state condotte numerose revisioni sistematiche e meta-analisi di studi genetici e, più recentemente, un'analisi molto grande basata su un campione di due banche dati genetiche.

I risultati dei cinque studi più recenti sull'associazione tra il gene SERT e la depressione e gli effetti dell'interazione sono dettagliati nella Tabella 1.

Sebbene alcune precedenti meta-analisi di studi caso-controllo hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa tra il 5-HTTLPR e la depressione in alcuni gruppi etnici [57, 58], due studi recenti di grandi dimensioni e di alta qualità non hanno riscontrato un'associazione tra il polimorfismo del gene SERT e la depressione [27, 32].

Questi due studi consistono della più grande e più completa ricerca disponibile ad oggi [32] e di una meta-analisi di alta qualità in cui sono stati rianalizzati i dati di tutti gli studi effettuati, inclusi i dati di studi non pubblicati in precedenza, e in cui sono stati effettuati altri controlli di qualità [27, 59] (cfr. tabella 1).

In modo simile, mentre i primi studi basati su decine di migliaia di partecipanti hanno suggerito un'associazione statisticamente significativa tra il gene SERT, forme di stress o maltrattamento e depressione [60-62], con un piccolo rapporto di probabilità nell'unico studio che lo ha riportato (1,18, IC 95% da 1,09 a 1,28) [62], tuttavia, due recenti studi di grandi dimensioni e di alta qualità non hanno trovato un'associazione tra il gene SERT e lo stress nella depressione (Border et al [32] e Culverhouse et al.) [27] (vedi Tabella 1).

Sintesi dei risultati

La Tabella 3 presenta le valutazioni GRADE modificate per ciascuno studio e la valutazione complessiva della forza dell'evidenza in ciascuna area. Le aree di ricerca che hanno fornito una certezza di evidenza moderata o alta, come gli studi sulla serotonina plasmatica e sui suoi metaboliti e gli studi sull'interazione tra geni e stress, non hanno evidenziato un'associazione tra i marcatori dell'attività della serotonina e la depressione. Alcune altre aree di ricerca hanno suggerito risultati coerenti con un aumento dell'attività della serotonina, ma in questo caso le prove hanno una certezza molto bassa, principalmente per le piccole dimensioni del campione e per il possibile confondente secondario all'uso passato o attuale di antidepressivi. Un'area - gli studi sulla deplezione del triptofano - ha mostrato prove di certezza molto basse di una ridotta attività o disponibilità della serotonina in un sottogruppo di volontari con una storia familiare di depressione. Il grado di certezza molto basso deriva dal fatto che le prove provengono da un sottogruppo di studi entro i soggetti, i numeri erano piccoli e non c'erano informazioni sull'uso dei farmaci, che potrebbero aver influenzato i risultati. Ricerche successive non hanno confermato questo effetto, con numerosi studi negativi su volontari.

DISCUSSIONE

La nostra revisione dei principali filoni di ricerca sulla serotonina mostra che non ci sono prove convincenti che la depressione sia causata o associata a concentrazioni di serotonina più basse o ad un'attività minore della stessa. La maggior parte degli studi non ha evidenziato prove di riduzione dell'attività della serotonina nelle persone con depressione rispetto alle persone senza depressione, ed i metodi per ridurre la disponibilità di serotonina utilizzando la deplezione del triptofano non mostrano una costante riduzione dell'umore nei volontari.

Studi genetici di alta qualità escludono in modo efficace un'associazione tra genotipi legati al sistema serotoninergico e depressione, inclusa una proposta interazione con lo stress.

Deboli prove da alcuni studi sui recettori della serotonina 5-HT1A e livelli di SERT puntano verso una possibile associazione tra un aumento dell'attività della serotonina e depressione. Tuttavia, è probabile che questi risultati siano influenzati dall'uso precedente di antidepressivi e dai loro effetti sul sistema serotoninergico [30, 31].

Sebbene non sono riscontrati in modo costante, gli effetti della deplezione del triptofano in alcuni studi di cross-over che coinvolgono persone con depressione potrebbero anche essere mediati dagli antidepressivi [63].

La teoria dello squilibrio chimico della depressione è tuttora sostenuta dai medici [17] e la teoria della serotonina, in particolare, ha costituito la base di un notevole sforzo di ricerca nelle ultime decadi [14]. La gente comune crede ampiamente che sia stato dimostrato in modo convincente che la depressione sia causata da un'alterazione della serotonina o da altre anomalie chimiche [15, 16], e questa credenza dà forma al modo in cui le persone intendono i loro stati d'animo, portando a prospettive pessimistiche sull'esito della depressione e ad aspettative negative sulla possibilità di autoregolazione dell'umore [64-66]. L'idea che la depressione sia anche il risultato di uno squilibrio chimico influenza le decisioni sull'opportunità di assumere o continuare

ad assumere i farmaci antidepressivi e può scoraggiare le persone dall'interrompere il trattamento, portando potenzialmente ad una dipendenza permanente da questi farmaci [67, 68].

Come per tutte le ricerche di sintesi, i risultati di questa revisione ad ombrello dipendono dalla qualità degli studi inclusi e sono suscettibili delle loro limitazioni. La maggior parte degli studi inclusi sono stati valutati di bassa qualità in base all'AMSTAR-2, ma l'approccio GRADE ha suggerito che alcuni risultati erano ragionevolmente robusti.

La maggior parte degli studi non genetici non hanno escluso in modo affidabile i potenziali effetti del precedente uso di antidepressivi e si basavano su un numero relativamente piccolo di partecipanti. Gli studi genetici, in particolare, illustrano l'importanza del rigore metodologico e della dimensione del campione. Mentre alcuni studi precedenti, di qualità inferiore, per lo più di dimensioni ridotte, hanno prodotto risultati marginalmente positivi, questi non sono stati confermati in studi meglio condotti, più ampi e più recenti [27, 32]. L'identificazione della depressione e la valutazione dei fattori confondenti e degli effetti dell'interazione sono stati limitati dai dati disponibili negli studi originali sui quali le revisioni e le meta-analisi erano basate.

Metodi comuni come la categorizzazione di misure continue e l'applicazione di modelli lineari a dati non lineari potrebbero aver portato ad una sovrastima o ad sottostima degli effetti [69, 70], tra cui l'interazione tra lo stress e il gene SERT.

L'ultima revisione sistematica negli studi di deplezione del triptofano è stata condotta nel 2007 e da allora sono state prodotte ricerche considerevoli. Abbiamo quindi fornito un'istantanea delle prove più attuali, ma quest'area richiede una sintesi dei dati aggiornata e completa. Tuttavia, gli studi recenti erano coerenti con la precedente meta-analisi con poche prove per un effetto dell'esaurimento del triptofano sull'umore.

Sebbene le revisioni ombrello in genere si limitino a revisioni sistematiche e meta-analisi, abbiamo mirato a fornire una panoramica la più completa possibile. Pertanto, abbiamo scelto di includere anche meta-analisi che non hanno comportato una revisione sistematica ed un ampio studio di associazione genetica sulla premessa che questi studi forniscono dati importanti alla domanda se ci siano delle prove per l'ipotesi serotoninergica della depressione. Di conseguenza, la scala di valutazione della qualità AMSTAR-2, progettata per valutare la qualità delle revisioni sistematiche convenzionali, non è stata facilmente applicabile a tutti gli studi ed è stata modificata o sostituita in alcuni casi.

Uno studio in questa revisione ha rilevato che l'uso di antidepressivi era associato ad una riduzione della serotonina plasmatica [26], ed è così possibile che l'evidenza per le riduzioni della densità SERT e recettori 5-HT1A in alcune delle revisioni degli studi di imaging inclusi possa riflettere degli adattamenti compensatori all'abbassamento della serotonina secondari al precedente uso di antidepressivi. Gli autori di una meta-analisi hanno anche evidenziato le prove della riduzione dei livelli di 5-HIAA dopo un trattamento antidepressivo a lungo termine [71]. Questi risultati suggeriscono che a lungo termine gli antidepressivi potrebbero produrre cambiamenti compensatori [72] opposti ai loro effetti in acuto [73, 74].

È stata dimostrata anche una ridotta disponibilità di serotonina negli studi sugli animali dopo una somministrazione prolungata di antidepressivi [75]. Sono necessarie ulteriori ricerche per chiarire gli effetti dei diversi farmaci sui sistemi neurochimici, compreso il sistema della serotonina, soprattutto durante e dopo l'uso a lungo termine, così come sono necessari studi per chiarire le conseguenze fisiche e psicologiche di tali effetti.

Questa revisione suggerisce che l'enorme sforzo di ricerca basato sull'ipotesi serotoninergica della depressione non ha prodotto prove convincenti di una base biochimica alla depressione. Questo risultato è coerente con la ricerca su molti altri marcatori biologici [21]. Sugeriamo che sia arrivato il momento di riconoscere che la teoria serotoninergica della depressione non è sostenuta dalle prove.

La Redazione di Farmaco-logico!

Joanna Moncrieff, Ruth E. Cooper, Tom Stockmann, Simone Amendola, Michael P. Hengartner⁶ and Mark A. Horowitz^{1,2}. "The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Molecular Psychiatry* ." *Molecular Psychiatry* published online 20 July 2022



Table 1. Study characteristics and results.

Study	Design	N total: studies, participants (cases; controls where relevant)	Serotonin measure	Medication status	Summary effect (95% CI), p Heterogeneity-p, I ² (95% CI), N for analysis (if different from total sample size)	Quality rating (AMSTAR-2)/% STREGA % satisfactory (of applicable terms)
Serotonin and 5HIAA: case (depression) vs. healthy control studies comparing concentration of serotonin in plasma and CSF						
Huang et al., 2020	Meta-analysis of cohort studies	3 studies, 663 women with depression; 1806 controls	5-HT in plasma	18.3% of patients were taking antidepressants.	$\beta = -0.26$ (-0.48 to -0.03), $p > 0.05$ after correction for multiple testing Heterogeneity not reported Sensitivity analysis: No difference in levels of 5-HT in women with depression not taking antidepressants compared to controls (women without depression not taking antidepressants) ($p = 0.528$) Lower levels of 5-HT in women with depression taking antidepressants compared to controls ($p < 0.0001$) and in women taking antidepressants without depression compared to controls ($p < 0.0001$)	60%
Ogawa et al., 2018	Systematic review and meta-analysis	11 studies, 435 people with depression; 380 controls	5-HIAA in CSF	All participants drug free – washout: 4–57 days (mode 14 days)	$g = 0.042$ (-0.26 to 0.17), $p = 0.70$, heterogeneity: $I^2 = 48.24$ ($p = 0.026$)	48%
Pech et al., 2018	Systematic review and meta-analysis	13 studies, 529 people with depression; 473 controls	5-HIAA in CSF	10 studies: patients were drug free - washout: 4 days-6 weeks (mostly 2–4 weeks). 2 studies: some patients used occasional antidepressants. 1 study: majority of patients taking imipramine and chlorpromazine	Mean difference = -3.85 (-8.89 to 1.19) ($g = 0.06$), $p = 0.14$, heterogeneity – not reported	38%
Receptors: case (depression) vs. healthy control studies comparing 5-HT ₁ receptor binding						
Nikolaus et al., 2016	Systematic review and meta-analysis	14 studies, 245 people with depression; 316 controls	5-HT _{1A} receptor binding	2 studies conducted with drug naive patients (total N = 19). 11 studies - prior treatment with antidepressants and/or other psychiatric drugs – washout: 1–1825 days (mode 14 days) 1 study medication not specified	Trend for increased 5-HT ₁ in parahippocampal gyrus (+23%), $p = 0.096$. Trend for reduced 5-HT ₁ in midbrain (-17%), $p = 0.076$. N and heterogeneity – not reported for any brain areas.	19%
Wang et al., 2016	Systematic review and meta-analysis	10 studies, 218 people with depression; 261 controls	5-HT _{1A} receptor binding	9 studies: drug-free – washout: 2–26 weeks (mainly 2–3 weeks). 1 study: medication naive.	Reduced 5-HT _{1A} binding mesiotemporal cortex SMD = -0.8 (-1.36, -0.24), $p = 0.005$, heterogeneity: $I^2 = 87%$ ($p < 0.00001$) 218 patients, 261 controls** Reduced 5-HT _{1A} binding hippocampus SMD = -0.29 (-0.51, -0.07), $p = 0.010$, heterogeneity: $I^2 = 33%$, $p = 0.18$ 148 patients, 203 controls. Reduced 5-HT _{1A} binding raphe nucleus SMD = -0.60 (-1.17, -0.04), $p = 0.04$ Heterogeneity: $I^2 = 88%$, $p < 0.00001$ 218 patients, 261 controls Reduced 5-HT _{1A} binding insular cortex SMD = -0.79 (-1.54, to -0.05), $p = 0.04$. Heterogeneity: $I^2 = 91%$, $p < 0.00001$ 180 patients, 225 controls. There was no significant difference in the occipital cortex and the anterior cingulate cortex.	52%

Table 1. continued

Study	Design	N total: studies, participants (cases; controls where relevant)	Serotonin measure	Medication status	Summary effect (95% CI), <i>p</i> Heterogeneity- <i>p</i> , <i>I</i> ² (95% CI), <i>N</i> for analysis (if different from total sample size)	Quality rating (AMSTAR-2)/% satisfactory (of applicable terms)
Serotonin transporter (SERT): case (depression) vs. healthy control studies comparing SERT binding						
Nikolaus et al., 2016	Systematic review and meta-analysis	35 studies, 694 people with depression; 700 controls	SERT binding	26 studies: drug-free - washout: 3-900 days. 5 studies: drug naive 2 studies: patients medicated when scanned. 2 studies: did not report medication.	Reduced SERT in thalamus -12%, <i>p</i> = 0.004 Reduced SERT in amygdala -15%, <i>p</i> = 0.04. Reduced SERT in midbrain/pons -8%, <i>p</i> = 0.005 Increased SERT in insula +9%, <i>p</i> = 0.037 <i>N</i> , <i>CI</i> and heterogeneity - not reported for any brain areas.	19%
Kambeitz & Howes., 2015	Systematic review and meta-analysis	25 in vivo imaging studies, 25 post-mortem studies, 877 people with depression; 968 controls	SERT binding	In vivo studies: three studies - antidepressant naive patients. Post Mortem studies: medication status not reported	In vivo Reduced SERT in brainstem <i>g</i> = -0.31 (-0.55 to -0.08), <i>p</i> = 0.01, heterogeneity - <i>I</i> ² = 60.69% (95% CI: 34.39 to 83.35%), <i>N</i> = 880 Reduced SERT in midbrain <i>g</i> = -0.28 (-0.49 to -0.07), <i>p</i> = 0.01, heterogeneity - <i>I</i> ² = 49.68% (95% CI: 14.34% to 78.72%), <i>N</i> = 827 Reduced SERT in amygdala <i>g</i> = -0.37*** (-0.61 to -0.13), <i>p</i> < 0.01, heterogeneity - <i>I</i> ² = 0% (95% CI: 0% to 75.38%), <i>N</i> = 318 Reduced SERT in striatum <i>g</i> = -0.39 (-0.62 to -0.17), <i>p</i> < 0.001, heterogeneity - <i>I</i> ² = 6.7% (0% to 78.1%), <i>N</i> = 370 No difference: hippocampus, thalamus, cingulate cortex, frontal cortex. Post-mortem: Reduced SERT in hippocampus <i>g</i> = -0.63 (-1.12 to -0.15), <i>p</i> = 0.01 heterogeneity - <i>I</i> ² = 43.97% (0% to 93.34%), <i>N</i> = 141 Non-significant after correction for publication bias; <i>g</i> = 0.32, <i>p</i> = 0.32 No difference: brainstem, frontal lobe. Meta-analysis not possible for other areas	48%
Gryglewski et al., 2014	Systematic review and meta-analysis	18 studies, 364 people with depression; 372 controls	SERT binding	149/364 patients - drug naive; others drug free: 5 days to > 1 year (median 7 weeks)	Reduced SERT in midbrain: <i>g</i> = -0.49 (-0.84 to -0.14), heterogeneity - <i>I</i> ² = 68.7%, 313 patients, 321 controls. Reduced SERT in amygdala <i>g</i> = -0.50 (-0.78 to -0.22), heterogeneity - <i>I</i> ² = 0%, 96 patients, 128 controls. No difference: brainstem, thalamus, striatum, frontal cortex, cingulate cortex.	48%
Tryptophan depletion studies: effect of acute tryptophan depletion (ATD) on mood in healthy volunteers; healthy volunteers with family history of depression; drug-free patients with MDD in remission						
Ruhé et al., 2007	Systematic review and meta-analysis	Included in meta-analysis: 32 healthy volunteer studies, <i>N</i> = 566; 19 patient studies <i>N</i> = 322	ATD	6 studies involved patients with prior use of antidepressants: 1 study: <3 months; 2 studies 1-3 months 3 studies >6 months 7 studies involved patients with current use of antidepressants. Remainder unspecified.	No effect of ATD in healthy volunteers in parallel group studies (negative for family history of depression): Pooled <i>g</i> = -0.63 (-1.95 to 0.70), <i>N</i> = 151. Sensitivity analysis excluding an outlier study reduced Hedges <i>g</i> to 0.16 (-0.43 to 0.76), <i>N</i> = 125. No effect of ATD in cross-over studies with volunteers with no family history of depression, <i>g</i> = -0.19 (-0.43 to 0.05), <i>p</i> = 0.13, heterogeneity - <i>I</i> ² = 65.6%, <i>p</i> < 0.001, <i>N</i> = 259 ^a	71%

Table 1. continued

Study	Design	N total: studies, participants (cases; controls where relevant)	Serotonin measure	Medication status	Summary effect (95% CI), <i>p</i> Heterogeneity- <i>p</i> , <i>I</i> ² (95% CI), <i>N</i> for analysis (if different from total sample size)	Quality rating (AMSTAR-2/ <i>*STREGA</i>) % satisfactory (of applicable terms)
Fusar-Poli et al., 2006	Systematic review and narrative synthesis	22 studies (23 cohorts) 64 people with remitted depression; 278 controls	ATD	A portion of the remitted depressed group were taking antidepressants but exact proportion not reported	ATD lowered mood in cross-over studies with healthy controls with family history of depression: Hedge's <i>g</i> = -0.56 (-1.00 to -0.13), <i>p</i> = 0.01, heterogeneity - <i>I</i> ² = 50.8%, <i>p</i> = 0.06, <i>N</i> = 75. ATD lowered mood in cross-over studies in drug-free people with remitted MDD: <i>g</i> = -1.90 (-3.02 to -0.78), <i>p</i> = 0.0009, heterogeneity - <i>I</i> ² = 89.4%, <i>P</i> < 0.00001, <i>N</i> = 97. ATD lowered mood in cross-over studies with people with remitted MDD currently using antidepressants : <i>g</i> = -0.49 (-0.89 to -0.10), <i>p</i> = 0.01, heterogeneity - <i>I</i> ² = 53.3%, <i>P</i> = 0.04, <i>N</i> = 83. Results reported narratively. 17/19 studies involving healthy volunteers showed no effect of tryptophan depletion on mood. 4 studies in patients with remitted depression, an unspecified portion of whom were taking antidepressants, found a decrease in mood following tryptophan depletion. Effect sizes or statistical significance were not reported.	22%
SERT gene: association between SERT gene and depression						
Border et al., 2019	Genetic association study	Data from two genetic data banks: 48,190–115,257 individuals	Association between 5-HTTLPR polymorphism and depression	N/A	No relationship between 5-HTTLPR polymorphism and estimated lifetime MDD diagnosis OR = 1.000, <i>p</i> = 0.994 (<i>N</i> = 115,257) None of seven other depression outcomes (e.g. estimated lifetime diagnosis, current depression severity) showed an association with the 5-HTTLPR polymorphism. <i>N</i> = 48,190–115,257	88%*
Culverhouse et al., 2018	Collaborative meta-analysis	31 data-sets, 43,165 individuals	5-HTTLPR polymorphism association with depression	N/A	No significant effect of number of copies of s-allele of 5-HTTLPR on lifetime depression. OR 1.00 (0.95 to 1.05), <i>p</i> = 0.95, <i>N</i> = 21,135. Heterogeneity- not reported All other analyses with variations of stress exposure and depression evaluation were non-significant with OR 1.00–1.08, <i>p</i> = 0.36–0.97, <i>N</i> = 13,835–28,252	100%
Oo et al., 2016	Systematic review and meta-analysis	23 studies, 3392 people with depression; 5093 controls	5-HTTLPR polymorphism association with depression	N/A	5-HTTLPR polymorphism associated with depression (per S allele): OR = 1.16 (1.08 to 1.23), <i>p</i> -value. Heterogeneity- <i>I</i> ² = 29.3%, <i>p</i> = 0.09 Homozygote carriers of the S allele of 5HTTLPR polymorphism compared with heterozygote and non-carriers combined (SS vs SL+LL genotype): OR = 1.33 (1.19 to 1.48) for major depressive disorder. Heterogeneity- <i>I</i> ² = 0.1%, <i>p</i> = 0.46	62%
Gatt et al., 2015	Umbrella review	11 meta-analyses included 1014–14,250 participants	7 meta-analyses of case control studies of 5-HTTLPR polymorphism and depression. 4 meta-analyses of GWAS	N/A	Individual gene meta-analyses: 3 studies found the S allele or SS genotype associated with depression in mixed and Caucasian samples (OR 1.11 (1.04–1.19), <i>N</i> = 9459 OR 1.23 (1.01–1.52), <i>N</i> = 1014 OR 1.40 (1.19–1.65), <i>N</i> = 6884) 3 studies reported no effect of the S allele in mixed and Caucasian samples 2 studies reported no effect of the SS genotype in Caucasian samples 3 studies found that the S allele or SS genotype had no effect in Asian samples	17%

Table 1. continued

Study	Design	N total: studies, participants (cases, controls where relevant)	Serotonin measure	Medication status	Summary effect (95% CI), p Heterogeneity, I^2 (95% CI), N for analysis (if different from total sample size)	Quality rating (AMSTAR-2/ ^a STREGA) % satisfactory (of applicable terms)
Kiyohara & Yoshimasu, 2010	Systematic review and meta-analysis	22 studies; 2934 people with depression; 4985 controls	5-HTTLPR polymorphism association with depression	N/A	No evidence of association in all 4 GWAS meta-analyses ($n = 6566$ to $n = 12,664$)	57%
Gene-stress interaction						
Border et al., 2019	See Border et al., 2019 (above)	See Border et al., 2019 (above)	5-HTTLPR Polymorphism x environmental interaction effect on depression	N/A	No significant interaction between the 5-HTTLPR polymorphism and childhood trauma. $\text{Exp}(\beta) = 0.998$, $p = 0.919$, $N = 115,249$. Heterogeneity not given as not a meta-analysis. 31 other analyses using different measures of stress or depression found no significant interaction.	See Border et al., 2019 (above)
Bleys et al 2018	Systematic review and meta-analysis	51 studies, $N = 51,449$	Interaction between stress and 5-HTTLPR polymorphism in depression	N/A	OR = 1.18 (1.09 to 1.28). Heterogeneity- $I^2 = 52.4\%$, $p < 0.0001$	33%
Culverhouse et al., 2018	See Culverhouse et al., 2018 (above)	See Culverhouse et al., 2018 (above)	Interaction between stressful life events and 5-HTTLPR polymorphism for risk of depression	N/A	No significant interaction between number of copies of the s-allele for 5-HTTLPR and stress on risk of depression. OR = 1.05 (0.91 to 1.21), $p = 0.49$, $N = 21,135$ $I^2 = 0.0$, $p = 0.69$ All other analyses with variations of stress and depression evaluation (including continuous measures of stress) were non-significant. with ORs from 0.85 to 1.06, $p = 0.17-0.50$, $N = 13,835-28,252$ $I^2 = 0-16.7$, $p = 0.26-0.87$	See Culverhouse et al., 2018 (above)
Sharpley et al 2014	Systematic review and meta-analysis	81 studies, $N = 55,269$	Interaction between stress and 5-HTTLPR polymorphism in depression	N/A	OR not reported - Liptak-Stouffer Z-score method was used which combined p-values across studies, $p = 9 \times 10^{-7}$ Heterogeneity- not reported ($N = 55,269$)	48%
Karg et al 2011	Systematic review and meta-analysis	54 studies, $N = 40,749$	Whether the 5-HTTLPR polymorphism moderates the relationship between stress and depression	N/A	OR not reported - Liptak-Stouffer Z-score method was used which combined p-values across studies, $p = 0.00002$. Heterogeneity- not reported ($N = 40,749$)	29%

Extracted summary effects, confidence intervals and measures of statistical significance are reported. In reviews in which multiple meta-analyses were conducted, only summary effect sizes that were statistically significant are reported, with relevant negative findings that did not reach statistical significance listed. Where no relevant analysis was statistically significant, the results of the principal analysis (e.g., main gene effect) is reported. Data on heterogeneity is reported where relevant. Where sample size for a particular analysis was different from the total sample size, this is reported. For summary effects in the non-genetic studies, preference was given to the extraction and reporting of effect sizes. Mean differences were converted to effect sizes where appropriate data were available [25]. Where these data were not available the most relevant measure, such as the beta co-efficient, or average percentage change in ligand binding was reported. For genetic association studies, and gene-stress interactions studies we odds ratios are reported.

CSF Cerebrospinal fluid, *g* Hedges *g*, GWAS Genome Wide Association Studies, MDD Major Depressive Disorder, N/A not applicable, OR Odds Ratio, SMD Standard Mean Difference.

^aSTREGA rating: **where there were internal discrepancies between reported numbers in text or figures we obtained data from the original authors; ***where there were internal discrepancies between reported numbers in the text, and authors did not respond to queries, details from figures were prioritised, and statistics calculated from other data.

[#]sample size has a different meaning in crossover studies since each participant contributes data twice.

Table 2. Recent depletion studies comparing acute tryptophan depletion drink with amino acid balance drink (sham drink) - characteristics and results.

Study	Randomised controlled trial design	Participants: Healthy volunteers (HV) or people with depression*	Medication status	Summary effect (95% CI), p
Frey & McCabe, 2020	Parallel group, double blind	46 HV	No psychotropic medication for at least 3 months	No effect
Bar et al., 2020	Crossover trial, double blind	30 HV	Not specified	No effect
Deza-Araujo et al., 2018	Crossover trial, double blind	85 HV	Not specified	No effect
Martin et al., 2017	Crossover trial, double blind	15 HV	No history of neurological or psychiatric disorders	No effect
Eisner et al., 2016	Crossover trial, double blind	64 HV	No history of neurological or psychiatric disorders	No effect
Trotter et al., 2016	Parallel group, double blind	30 HV	Not specified	No effect
Hogenelst 2016	Crossover trial, double blind	40 HV with or without a family history of MDD	'No use of psychotropics'	No effect
Weinstein et al., 2015	Crossover trial, double blind	15 people with depression	Treated with sertraline for 12 weeks prior to study	No effect
Moreno et al., 2015	Crossover trial, double blind	64 people with personal and family history of MDD; in remission	No 'psychotropic medication' for at least 3 months prior to test	A significant main effect of test condition ($\chi^2 = 5.14$, d.f. = 1, $p = 0.023$) mainly due to improvement of HDRS scores following sham drink
Hembold et al., 2013	Crossover trial, double blind	18 HV	Not specified	No effect

MDD Major Depressive disorder, HDRS Hamilton depression rating scale.

*sample size has a different meaning in crossover studies since each participant contributes data twice.

Table 3. Modified GRADE ratings for each study and the overall rating of strength of evidence.

Study	Unified statistical analysis on original data	Confounding by antidepressant use adequately excluded (where effect found)*	Outcomes of interest pre-specified	Consistent results (or heterogeneity adequately addressed if present)	Little likelihood of bias (in funnel plots or tests)	Large sample (>500 for non-genetic and >10,000 for genetic)	Certainty of evidence	Overall certainty of domain
Serotonin and 5HT _{1A} : case (depression) vs. healthy control studies comparing concentration of serotonin in plasma and CSF								
Huang et al., 2020	1	1	1	0	1	1	Moderate certainty evidence of no effect (lowered serotonin explained by antidepressants)	Moderate certainty evidence of no effect
Ogawa et al., 2018	0	N/A	1	1	1	1	Moderate certainty evidence of no effect	Moderate certainty evidence of no effect
Pech et al., 2018	0	N/A	1	1	0	1	Low certainty evidence of no effect	Low certainty evidence of no effect
Receptors: case (depression) vs. healthy control studies comparing 5-HT ₁ receptor binding								
Nikolaus et al., 2016	0	0	0	0	0	0	Very low certainty evidence of increased serotonin activity	Very low certainty evidence of increased serotonin activity
Wang et al., 2016	0	0	1	0	0	0	Very low certainty evidence of increased serotonin activity	Very low certainty evidence of increased serotonin activity
Serotonin transporter (SERT): case (depression) vs. healthy control studies comparing SERT binding								
Nikolaus et al., 2016	0	0	0	0	0	0	Very low certainty evidence of increased serotonin activity	Very low certainty evidence of increased serotonin activity
Kambeitz & Howes., 2015	0	0	1	1	0	1	Very low certainty evidence of increased serotonin activity	Very low certainty evidence of increased serotonin activity
Gryglewski et al., 2014	0	0	1	1	0	1	Very low certainty evidence of increased serotonin activity	Very low certainty evidence of increased serotonin activity
Tryptophan depletion studies: effect of acute tryptophan depletion (ATD) on mood in healthy volunteers; healthy volunteers with family history of depression; drug-free patients with MDD in remission								
Ruhe et al., 2007	0	0	1	1	0	0	Very low certainty evidence of no effect for people with no family history of depression. Very low certainty evidence of lowered serotonin activity in those with a family history and people with depression in remission.	Very low certainty evidence of no effect or lowered serotonin activity in vulnerable populations
Fusar-Poli et al., 2006	0	N/A	1	0	0	0	Very low certainty evidence of lowered serotonin activity	Very low certainty evidence of lowered serotonin activity
SERT gene: association between SERT gene and depression								
Border et al., 2019	1	N/A	1	N/A	1	1	High certainty evidence of no effect of the SERT gene	High certainty evidence of no effect for SERT gene
Culverhouse et al., 2018	1	N/A	1	1	1	1	High certainty evidence of no effect of the SERT gene	High certainty evidence of no effect for SERT gene
Oo et al., 2016	0	N/A	0	1	1	0	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene
Gatt et al., 2015	0	N/A	0	0	0	0	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene
Kiyohara & Yoshimasu, 2010	0	N/A	1	0	1	0	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene	Very low certainty evidence of an effect for SERT gene
Gene-stress interaction								
Border et al., 2019	1	N/A	1	N/A	1	1	High certainty evidence of no effect for gene-stress interaction	High certainty evidence of no effect for gene-stress interaction
Bleys et al., 2018	0	N/A	1	0	1	1	Low certainty evidence of an effect for gene-stress interaction	Low certainty evidence of an effect for gene-stress interaction

Table 3. continued

Study	Unified statistical analysis on original data	Confounding by antidepressant use adequately excluded (where effect found)*	Outcomes of interest pre-specified	Consistent results (or heterogeneity adequately addressed if present)	Little likelihood of bias (in funnel plots or tests)	Large sample (>500 for non-genetic and >10,000 for genetic)	Certainty of evidence	Overall certainty of domain
Culverhouse et al., 2018	1	N/A	1	1	1	1	High certainty evidence of no effect for gene-stress interaction	
Sharpley et al., 2014	0	N/A	1	0	1	1	Low certainty evidence of an effect for gene-stress interaction	
Karg et al., 2011	0	N/A	1	0	1	1	Low certainty evidence of an effect for gene-stress interaction	

N/A not applicable

*Where no effect found or where prior use of medication is not relevant (as in genetic studies), item was rated as 'not applicable'.