

Université de Montréal

L'expression du transporteur de sérotonine est diminuée en dépression majeure mais normale en fibromyalgie dans les cellules mononucléées du sang périphérique

par

Gaël Villanueva-Charbonneau

Département de pharmacologie et physiologie

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître en Sciences (M.Sc.)

en Physiologie moléculaire, cellulaire et intégrative

Option Générale

Août 2023

© Gaël Villanueva-Charbonneau, 2023

Université de Montréal

Physiologie moléculaire, cellulaire et intégrative: Département de pharmacologie et physiologie,
Faculté de Médecine

Ce mémoire intitulé(e)

**L'expression du transporteur de sérotonine est diminuée en dépression majeure mais normale en
fibromyalgie dans les cellules mononucléées du sang périphérique**

Présenté par

Gaël Villanueva-Charbonneau

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Martin G. Sirois

Président-rapporteur

Édouard Kouassi

Directeur de recherche

Stéphane Potvin

Codirecteur

Marc Lavoie

Membre du jury

Résumé

Introduction: La fibromyalgie (FM) et la dépression majeure (MDD) sont des comorbidités fréquentes qui partagent des altérations communes dans la neurotransmission sérotoninergique. Cependant, on ignore encore si ces altérations sont persistantes ou transitoires.

Objectifs : Le but principal de cette étude était (i) de mesurer les changements dans l'expression du transporteur de sérotonine (SERT) chez les patients FM, MDD et FM/MDD, par rapport aux volontaires sains (VS); et (ii) d'évaluer l'effet des traitements pharmacologiques (quétiapine et divers antidépresseurs) sur l'expression du SERT chez ces sujets. Des analyses exploratoires de l'expression du transporteur de dopamine (DAT) ont aussi été réalisées.

Méthodologie: Les PBMC sont isolées chez les patients FM, MDD, et FM/MDD, et chez les VS. L'expression de SERT et de DAT a été analysée au niveau de l'ARNm par PCRq. La signification statistique est analysée par des analyses de variance et des modèles linéaires mixtes.

Résultats: L'expression de l'ARNm du SERT est significativement diminuée chez les patients MDD, par rapport aux VS ($p < 0.001$), mais pas elle est inchangée chez les patients FM et FM/MDD. Les traitements pharmacologiques entraînaient une amélioration des symptômes cliniques de la FM et de la MDD, mais ils n'avaient aucun effet sur l'expression de l'ARNm du SERT chez les patients. Comparativement au SERT, l'ARNm du DAT est indétectable chez plusieurs participants.

Discussion/Conclusion : Ces résultats corroborent le rôle du SERT dans la physiopathologie de la MDD. De plus, ils démontrent que la diminution de l'expression du SERT est un phénomène persistant plutôt que transitoire.

Mots clés : transporteur de dopamine, transporteur de sérotonine, dépression majeure, fibromyalgie, biomarqueur, lymphocyte, monocyte, quétiapine

Abstract

Introduction: Fibromyalgia (FM) and major depression disorder (MDD) are frequent comorbidities. Both disorders may share common serotonergic alterations, but it is still unclear whether these alterations are persistent or transient.

Objectives: The primary objective of this study was to (i) examine the changes in expression of serotonin transporter (SERT) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in FM, MDD and FM/MDD subjects, compared to healthy controls; and to (ii) evaluate the effect of drug treatment (quetiapine and various antidepressants) on the expression of SERT in these subjects. Exploratory analyses on the expression of the dopamine transporter (DAT) were also performed.

Methods PBMC were isolated from FM, MDD and FM/MDD subjects, and healthy controls. SERT and DAT expression were analysed at the mRNA level by qPCR. Statistical analyses were performed using analyses of variance and linear mixed-effects model.

Results: The mRNA expression of SERT was significantly reduced in MDD subjects compared to healthy controls ($p < 0.001$), but not in FM nor in FM/MDD subjects. Although drug treatments improved symptoms in FM, MDD and FM/MDD subjects, they had no significant effect on SERT mRNA expression. Comparatively to SERT, DAT mRNA expression was undetectable in several participants.

Discussion/Conclusion: These results corroborate the role of SERT in the pathophysiology of MDD. They also show that the decreased expression of SERT mRNA is a persistent rather than a transient phenomenon in MDD.

Keywords: dopamine transporter, serotonin transporter, major depression, fibromyalgia, biomarker, lymphocyte, monocyte, quetiapine

Table des matières

RÉSUMÉ	3
ABSTRACT	4
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	8
LISTE DES ABRÉVIATIONS	9
REMERCIEMENTS	12
CHAPITRE I : INTRODUCTION	13
MISE EN CONTEXTE	13
INTRODUCTION AUX DEUX MALADIES	15
<i>Dépression majeure (MDD)</i>	15
<i>Fibromyalgie (FM)</i>	16
<i>Comorbidité entre la dépression et la fibromyalgie</i>	17
TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES	18
LES MONOAMINES ET LEURS TRANSPORTEURS	18
<i>La sérotonine (5-HT)</i>	19
<i>Le transporteur de sérotonine (5-HTT ou SERT)</i>	23
<i>La dopamine (DA)</i>	25
<i>Le transporteur de dopamine (DAT)</i>	28
RÔLE CLINIQUE DES MONOAMINES EN DÉPRESSION ET FIBROMYALGIE	29
<i>Imagerie cérébrale</i>	29
<i>Études génétiques</i>	33
<i>Études sur les biomarqueurs périphériques</i>	34
<i>Études sur le plasma</i>	37
INTÉRÊT DE L'ÉTUDE	38
<i>Biomarqueurs périphériques</i>	38
<i>Traitement par la quétiapine</i>	40
HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS.....	41
CHAPITRE II : ARTICLE	42
ABSTRACT	43
INTRODUCTION	44
METHODS	48
RESULTS	52
DISCUSSION.....	57
REFERENCES.....	62
CHAPITRE III : DISCUSSION	73
EXPRESSION DE L'ARNM DU SERT ET DU DAT DANS LES PBMC CHEZ LES PATIENTS MDD, FM ET FM/MDD	73
<i>SERT</i>	73
<i>DAT</i>	77
EFFET DU TRAITEMENT PHARMACOLOGIQUE SUR L'EXPRESSION DE L'ARNM DU SERT DANS LES PBMC CHEZ LES PATIENTS MDD, FM ET FM/MDD.....	82

FORCES ET LIMITES.....	86
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE.....	89
ANNEXES.....	106

Liste des figures

FIGURE 1. STRUCTURE MOLÉCULAIRE DE LA SÉROTONINE	19
FIGURE 2. SCHÉMA RÉSUMANT LES STRUCTURES ANATOMIQUES IMPLIQUÉES DANS LES VOIES NERVEUSES SÉROTONINERGIQUES (BLUMENFELD, 2010)	20
FIGURE 3. MODÈLE MOLÉCULAIRE DU SERT (RAVNA ET AL., 2009)	23
FIGURE 4. STRUCTURE MOLÉCULAIRE DE LA DOPAMINE	25
FIGURE 5. SCHÉMA RÉSUMANT LES STRUCTURES ANATOMIQUES IMPLIQUÉES DANS LES VOIES NERVEUSES DOPAMINERGIQUES (BLUMENFELD, 2010)	26
FIGURE 6. MODÈLE MOLÉCULAIRE DU DAT (RAVNA ET AL., 2009).....	28

Liste des tableaux

TABLEAU I. REVUE DE LA LITTÉRATURE AU SUJET DES DIFFÉRENCES D'EXPRESSION DU DAT ET DU SERT EN FM ET MDD PAR RAPPORT AUX VOLONTAIRES SAINS, AU NIVEAU DU SNC ET EN PÉRIPHÉRIE.	39
TABLEAU II. COMPARAISON DE NOS RÉSULTATS AVEC CEUX DE LA LITTÉRATURE AU SUJET DU DAT ET DU SERT EN FM, EN MDD ET EN COMORBIDITÉ FM/MDD SOIT AU SNC OU EN PÉRIPHÉRIE.....	81

Liste des abréviations

5-HT : Sérotonine

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ARNm : acide ribonucléique messenger

BBB : Barrière hématoencéphalique (« Brain blood barrier »)

COMT : Catechol-O-méthyltransférase

CPA : Cellules présentatrices d'antigènes

DA : Dopamine

DAT : Transporteur de dopamine

FM : Fibromyalgie

FIQ-TOT : « Fibromyalgia Impact Questionnaire Total »

GRIK: récepteur ionotropique kainite

HAM-A: « Hamilton Anxiety »

HAM-D: « Hamilton Depression »

HDL: « High-density lipoprotein »

HHS: Hypothalamus-hypophyse-surrénalien

HSP: « Heat-shock proteins »

IDO: indoléamine 2,3 dioxygénase

IRSN : Inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-norépinephrine

IRM : Résonance magnétique

ISRS : Inhibiteurs sélectif de la recapture de sérotonine

MAO : Monoamine oxydase

MDD ou TDM : « Major depression disorder » ou Trouble dépressif majeur (dépression majeure)

FM/MDD : Comorbidité de la fibromyalgie et de la dépression majeure

MDMA : 3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine

NE : Norépinephrine

NET : Transporteur de norépinephrine

PBMC : Cellules mononucléées du sang périphérique (« Peripheral blood mononuclear cells »)

PCRq : Réaction en chaîne par polymérase en temps réel

SERT : Transporteur de sérotonine

SNC : Système nerveux central

SNP : Système nerveux périphérique

TEP : tomographie par émission par position

VLDL: « very low-density lipoproteins »

VMAT : Transporteur vésiculaire des monoamines

VS : Volontaires sains

β 2 : β 2-microglobuline

Dire que le cerveau est indispensable à la pensée est un truisme. En déduire que la cause des maladies mentales est purement cérébrale est abusif

Edouard Zarifian

Remerciements

Je remercie mon directeur de maîtrise Dr Édouard Kouassi pour son précieux encadrement tout au long de mon projet. Je remercie les Dr McIntyre, Dr Marchand, Dr Potvin et Dre McIntosh pour avoir fourni les échantillons sanguins des patients. Je souligne aussi l'aide du psychiatre Dr Bernier lors de la sélection des volontaires sains. Je tiens aussi à remercier mon co-directeur Dr Stéphane Potvin pour sa contribution précieuse à la rédaction de l'article scientifique découlant de ce projet de recherche, sans oublier l'aide de Charles-Édouard Giguère, qui a réalisé les statistiques indispensables à ces travaux.

Mon travail de recherche n'aurait pu être réalisé sans la précieuse des membres du laboratoire du Dr Kouassi: Nancy Zaour, Dr Guy-Bernard Bantsiele, Marie-Ève Koué, Ingrid Agbato, Brigitte Faquette et Geneviève Paquet.

Je remercie aussi le COPSÉ et le FRSQ pour le financement des bourses que j'ai reçues. Ce projet a été financé en partie par AstraZeneca.

Chapitre I : Introduction

Mise en contexte

L'ère où l'on séparait les maladies du domaine de la psychiatrie des autres systèmes du corps humain semble être du passé. Depuis l'essor des premiers psychotropes dans les années 50, les données ne cessent de s'accroître en faveur de la présence de dérèglements biochimiques, endocriniens et immunologiques pour mieux saisir la physiopathologie des maladies neuropsychiatriques telles que le trouble dépressif majeur (TDM ou MDD) (Moncrieff *et al.*, 2022) et de la douleur chronique comme la fibromyalgie (FM) (Ryabkova *et al.*, 2019).

Malgré cela, les outils présentement utilisés et standardisés par la médecine moderne pour identifier les personnes atteintes de ces maladies reposent principalement sur des symptômes cliniques du DSM-5 TR pour la MDD (American Psychiatric Association, 2022) et sur les critères du collège américain de rhumatologie pour la FM (Cassisi et Sarzi-Puttini, 2023). On fait face alors à plusieurs problèmes d'ordre subjectif et objectif. Les cliniciens qui suivent ces patients doivent miser sur leur sens clinique afin d'évaluer la sévérité de la maladie, ce qui peut laisser place à beaucoup de variabilité découlant de l'interprétation de chaque intervenant. Pour pallier ce problème, le domaine de la neuropsychiatrie s'est doté de plusieurs échelles de mesure afin de standardiser l'évaluation des patients. À titre d'exemple, citons les trois échelles « Hamilton Anxiety » (HAM-A), « Hamilton Depression » (HAM-D) et « Fibromyalgia Impact Questionnaire Total » (FIQ-TOT) qui au mieux atteignent des sensibilités/spécificités de 86%/64% (Hamilton, 1959), 90%/63% (Hamilton, 1960), 96%/96% (Assumpção *et al.* 2010) respectivement. Toutefois ces outils administrés par les patients eux-mêmes ou par les cliniciens

n'arrivent pas à éliminer les multiples biais statistiques associés à la lecture humaine des questions incluses dans ces échelles.

Alors pourquoi ne pas se tourner vers l'utilisation de tests biologiques qui sont mesurables et indépendants de l'opinion clinique ?

À cet effet, contrairement à plusieurs affections touchant d'autres organes du corps que le cerveau, nous ne disposons pas encore d'outils objectifs permettant le diagnostic et le suivi des troubles mentaux tels que les tests sanguins ou les tests d'imageries d'ordre quantitatif (Levchenko *et al.*, 2020). Des exemples du recours à des marqueurs très utilisés en médecine sont multiples. Dans la maladie coronarienne, les cliniciens utilisent les marqueurs enzymatiques que sont les troponines et la créatinine kinases (Thygesen *et al.*, 2018), ces dernières faisant parti des critères du diagnostic de l'infarctus du myocarde. Un autre exemple serait celui du diabète, qui s'appuie sur la base de l'hémoglobine glyquée A1c, entre autres, pour faciliter le diagnostic et le suivi (American Diabetes Association, 2023).

Par ailleurs, beaucoup d'efforts ont été investis dans les dernières années pour identifier des biomarqueurs pour la MDD (Ivanets *et al.*, 2021) et la FM (Hackshaw, 2021). Il va sans dire que l'idée de prélever du tissu cérébral demeure un problème à la fois logistique, économique et éthique face à une procédure si invasive et risquée que l'on réserve plutôt à la recherche clinique post-mortem. À la place, on peut se tourner vers des sites de prélèvements tels que la salive, le liquide céphalo-rachidien ou le sang. Comme pour les maladies non neuropsychiatriques, les catégories de marqueurs potentiels sont multiples : génétiques, épigénétiques, transcriptionnels (ARN messagers) et traductionnels (protéines).

Introduction aux deux maladies

L'association entre la MDD et la douleur chronique observée en FM n'est pas exprimée explicitement dans les chartes du diagnostic de ces deux maladies. Ainsi, il peut sembler difficile à comprendre le lien qui existe entre ces maladies. L'objectif du texte qui suit est de mettre en lumière le rapprochement qu'on peut faire autant au niveau clinique, épidémiologique qu'au niveau neurobiologique.

Dépression majeure (MDD)

La MDD est une maladie complexe avec de multiples facettes. Cette affection touche 280 millions de personnes dans le monde et demeure la première cause d'invalidité selon l'OMS (Organisation mondiale de la santé, 2023). La MDD se caractérise par la présence de cinq symptômes dépressifs depuis 2 semaines dans la même période, dont l'humeur dépressive et/ou d'anhédonie (critères DSM-V). Avec les critères du DSM-IV, on ne fait toutefois que très peu de rapprochement entre les critères de la MDD et la douleur chronique. Avec les changements du DSM-V (American Psychiatric Association, 2022), on inclut aussi la dépression persistante (dysthymie) et plusieurs sous-types comme la dépression saisonnière par exemple. Parmi ces sous-types, un effort a été mis pour prendre en considération des symptômes comme la « tension », « l'agitation », « l'incapacité à se concentrer », la « sensation de lourdeur dans les membres » et même la témérité associée à « l'engagement dans des activités plaisantes à haut risque de conséquences douloureuses ». Ainsi, on sent la volonté d'inclure certains symptômes qui s'apparentent aux symptômes de douleur chronique.

Toutefois, tous ces critères sont purement cliniques, c'est-à-dire, qui ne font aucunement mention de particularités biologiques.

Fibromyalgie (FM)

La FM est caractérisée par une douleur musculo-squelettique généralisée dans plus de 19 régions du corps depuis 3 mois selon les critères de 2010 du Collège américain de rhumatologie (Cassisi & Sarzi-Puttini, 2023). La prévalence de la FM varie entre 0,2 et 6,6 % dans la population mondiale (Marques *et al.*, 2017). La FM demeure néanmoins une entité mal comprise, et qui est souvent utilisée comme diagnostic d'exclusion des autres affections rhumatologiques. Les exemples de plaintes somatiques « d'exclusion » sont courants en médecine, notamment : lorsqu'un gastroentérologue diagnostique un syndrome du côlon irritable; un neurologue fait face à une céphalée inexplicée; un urologue ne peut trouver les causes de symptômes urinaires irritatifs, ou même lorsqu'un dentiste observe un problème temporomandibulaire (Gilheaney et Chadwick, 2023). Malheureusement, ces entités sont souvent mal comprises et stigmatisées par le personnel médical, étant donné l'impuissance et les moyens limités disponibles pour aider ces patients.

Toutefois, une donnée qui ressort chez cette population de patients, demeure souvent la présence d'hyperalgie, de fatigue, et de troubles de l'humeur (Siracusa *et al.*, 2021). Ceci laisse sous-entendre qu'on est face à un trouble de perception de la douleur plutôt qu'à une réelle affection organique localisée au niveau de la région symptomatique. De ce fait, on observe une réponse favorable de ces patients à des médicaments neuroleptiques même si l'explication neuropharmacologique précise n'est pas bien comprise. Même de simples changements

d'hygiène de vie comme de faire de l'exercice (Sevimli *et al.*, 2015), ou de traiter l'apnée du sommeil de ces patients (Marvisi *et al.*, 2015) donnent de bons résultats.

Ainsi, il faut plutôt approcher la FM et la douleur chronique comme des maladies complexes multifactorielles. Il va de soi que nous nous intéressons ici à l'aspect biologique de la FM, plus précisément aux mécanismes neurobiologiques centraux et périphériques.

Comorbidité entre la dépression et la fibromyalgie

Le choix de ces deux maladies repose sur l'existence de similitudes physiopathologiques au niveau neurochimique et de corrélations épidémiologiques importantes (Henaio-Perez *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2011 ; Santo *et al.*, 2017).

D'une part, on observe des altérations de sérotonine (5-HT), de norépinéphrine (NE) et de dopamine (DA) au niveau du système nerveux central (SNC) autant dans la MDD que pour la FM (Dean et Keshavan, 2017; et Sluka et Clauw, 2016). D'autre part, la prévalence en comorbidité de ces deux maladies atteint des niveaux remarquables. Jusqu'à 80 % des individus avec la FM souffrent également de MDD (Fietta *et al.*, 2007) et inversement 65% des patients dépressifs présenteraient également des symptômes de douleurs dont la FM (Løge-Hagen *et al.*, 2019). Nous observons également la forte prévalence de la FM dans la population de sexe féminin (Neumeister et Neumeister, 2020). En constatant la haute comorbidité entre ces deux désordres, et les similitudes physiopathologiques, il nous semble justifié d'étudier non seulement les patients atteints de MDD et de FM, mais aussi ceux ayant reçu un double diagnostique (FM/MDD).

Traitements pharmacologiques

En MDD, les traitements pharmacologiques de première ligne reposent surtout sur les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ISRS), ainsi que les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-noradrénaline (IRSN), les antidépresseurs atypiques, les modulateurs de la 5-HT, les antidépresseurs tricycliques et les inhibiteurs de la monoamine oxydase (Mojtabai et Olfson, 2008). Dans les cas réfractaires aux traitements de première ligne, les cliniciens essaient de choisir un traitement d'une autre classe ou essaient un antipsychotique de deuxième génération, ou le lithium ou même en combinaison (Malhi et Mann, 2018).

En FM, en général, la première ligne pharmacologique repose sur des petites doses d'antidépresseurs tricycliques (Häuser *et al.*, 2011). Chez les patients ayant des symptômes dépressifs, on préfère les IRSN ou les ISRS (Clauw *et al.*, 2008). Pour les patients souffrant d'insomnie, on favorise les anticonvulsivants nommés alpha2-ligand (Wiffen *et al.*, 2013). Cependant, peu de bénéfice a été observé avec l'acétaminophène, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (Derry *et al.*, 2017) ni avec les opiacés (Goldenberg *et al.*, 2016), ces derniers causant des problèmes de dépendance. Plus récemment, on observe que l'utilisation d'antipsychotiques, notamment la quétiapine, améliore d'environ 30 % la douleur avec des bénéfices sur l'humeur, l'insomnie, et la qualité de vie en général (Seehusen et Bain, 2017).

Les monoamines et leurs transporteurs

Les monoamines, tels que la 5-HT, la DA et la NE, semblent être la catégorie des molécules qui crée un plus grand engouement jusqu'à présent. Effectivement, on sait depuis longtemps que

ces neurotransmetteurs essentiels pour l'activité cérébrale se retrouvent en très grande quantité en périphérie. La 5-HT et la DA ont donc retenu notre attention.

La sérotonine (5-HT)

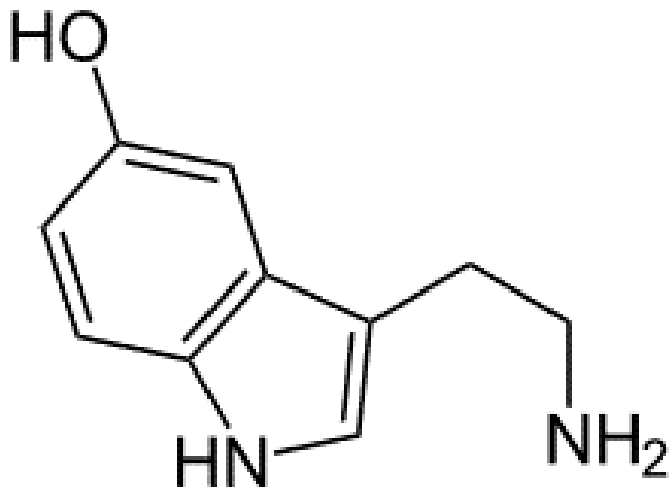


Figure 1. Structure moléculaire de la sérotonine

La 5-HT (5-hydroxytryptamine) est produite à partir de l'acide aminé L-tryptophane par l'intermédiaire du 5-hydroxytryptophane. Ensuite, la 5-HT est transportée activement dans des vésicules du bouton présynaptique via le transporteur VMAT (transporteur vésiculaire des monoamines). La régulation négative de la 5-HT se fait principalement via l'enzyme de dégradation MAO (monoamine oxydase) spécialement dans le SNC, via sa recapture par le transporteur de sérotonine (SERT) présynaptique, et ultimement en périphérie par une autre enzyme de dégradation COMT (catechol-O-méthyltransférase) (Rodan *et al.*, 2015).

On connaît bien le rôle de la 5-HT au niveau de la modulation de l'humeur, ce qui en fait un neurotransmetteur des plus importants dans les troubles psychiatriques du spectre de l'anxiété, de la dépression, des troubles alimentaires et des troubles de comportements agressifs. Ajoutons

aussi le rôle important attribué depuis 50 ans à la 5-HT pour expliquer les mécanismes physiopathologiques de la migraine (Horváth, 2014). Ces dernières caractéristiques sont attribuées principalement aux projections sérotoninergiques ascendantes provenant du raphé rostral situé au niveau du mésencéphale et du pont rostral qui communique directement au thalamus, de façon diffuse au cortex et aux ganglions de la base. D'autre part, les neurones sérotoninergiques jouent un rôle important sur la modulation de la douleur (Gackière et Vinay, 2014), la respiration (Manzke *et al.*, 2010), la régulation de la température corporelle (Ray *et al.*, 2011) et le contrôle moteur (Gackière et Vinay, 2014). Ceci est possible grâce aux projections descendantes du noyau du raphé caudal situé au niveau du pont caudal et du bulbe via leurs projections descendantes dans la moelle épinière.

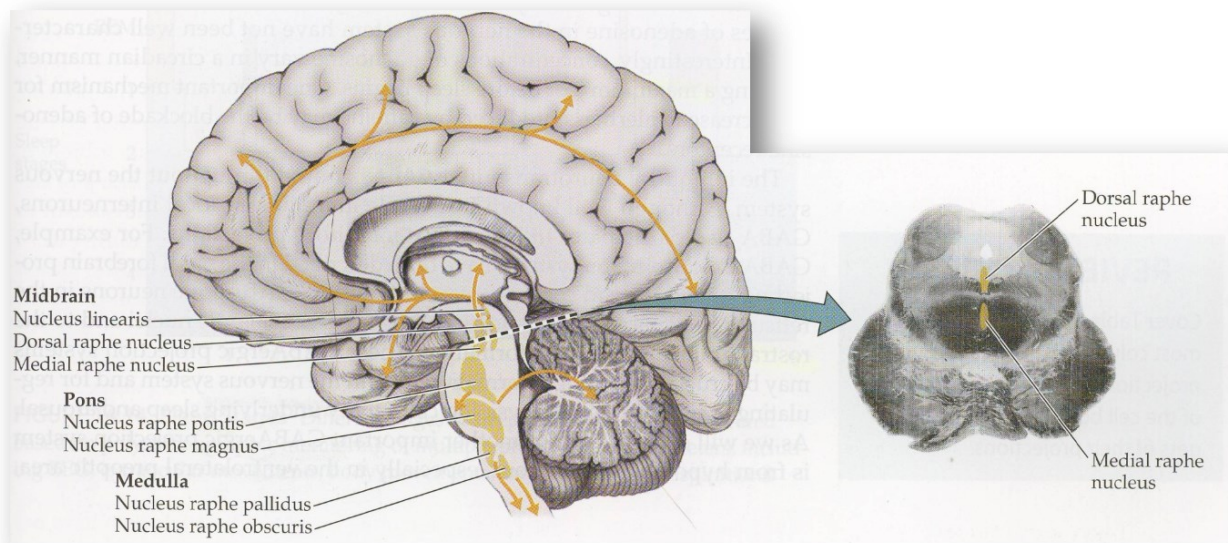


Figure 2. Schéma résumant les structures anatomiques impliquées dans les voies nerveuses sérotoninergiques (Blumenfeld, 2010)

Toutefois il ne faut pas sous-estimer l'importance de la sérotonine en périphérie. À titre d'exemple, la sérotonine est produite à 95 % dans l'intestin par les cellules entérochromaffines et les lymphocytes en périphérie, à l'opposé d'un maigre 5 % dans le cerveau (Mittal *et al.*, 2017). Il n'en demeure pas moins que la balance neurochimique de l'environnement restreint du cerveau est très fragile.

Par ailleurs, il ne faut pas oublier que les plaquettes demeurent un des réservoirs de la sérotonine les plus importants du corps. De fait 99 % de la 5-HT du plasma est entreposée dans les plaquettes (Anderson *et al.*, 1987). L'utilité de la 5-HT provenant des plaquettes reste à être élucidée complètement, on sait en outre qu'elle possède un rôle pro-inflammatoire lorsque libérée dans la cascade d'activation des plaquettes lors de l'hémostase primaire via le récepteur 5-HT₂ (van der Poll et Parker, 2020; Cerrito *et al.*, 1993). D'autres pistes de réflexion sont proposées pour détailler le rôle de la 5-HT des plaquettes dans l'article de Schoenichen *et al.* (2019).

Au niveau du système immunitaire, les exemples d'interactions entre le SNC et le système immunitaire sont multiples. D'une part, lorsque la barrière hématoencéphalique est compromise, cette dernière laisse circuler les neurotransmetteurs tels que la sérotonine et les cytokines inflammatoires. Cette perméabilité vient directement faire interagir les produits inflammatoires des cellules immunitaires (lymphocytes T et B, macrophages, mastocytes, cellules NK, cellules dendritiques, éosinophiles) avec la neurobiochimie du cerveau et vice-versa.

Il existe jusqu'à 7 grandes classes et 14 sous-types de familles de récepteurs à la 5-HT. L'activation de ces récepteurs se fait via leur couplage aux protéines G (s, i et q) et leur voie de signalisation respective, à l'exception du 5-HT₃, un récepteur-canal cationique (Shimizu *et al.*,

2013). Cette médiation du système immunitaire par la 5-HT se fait via la majorité de ces récepteurs à la 5-HT, notamment : 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₇ (Jaiswal *et al.*, 2015). Via ces récepteurs, la 5-HT influence l'inflammation, la phagocytose, la migration des cellules T et la production des cytokines. Rappelons que certaines cellules comme les macrophages et les lymphocytes T sont capables de synthétiser de la 5-HT en petites quantités (Chen *et al.*, 2015). De plus, la majorité des cellules du système immunitaire inné et adaptatif expriment le SERT, ce qui leur permet d'entreposer une quantité de 5-HT accessible lorsqu'elles en ont besoin pour leur diverses activités détaillées ci-haut (Jaiswal *et al.*, 2015). Par exemple, lorsque les terminaisons nerveuses du système nerveux autonome stimulent les ganglions lymphatiques, les cellules immunitaires se trouvant dans ces derniers sont capables de libérer leur contenu de 5-HT nécessaire pour leur propre fonction immunitaire (Mossner et Lesch, 1998).

Les exemples de maladies où l'effet inflammatoire et modulateur du système immunitaire sont très variés. Par exemple, les dernières hypothèses sur le système sérotoninergique proposent qu'il existe un déséquilibre des niveaux de sérotonine en périphérie dans l'autisme. En effet, des niveaux normaux de 5-HT seraient nécessaires afin que le SNC se développe normalement, au détriment d'une activation anormale pro-inflammatoire du système immunitaire (Jaiswal *et al.*, 2015). La preuve étant qu'on retrouve un ensemble de marqueurs inflammatoires à la hausse dans leur plasma (IL-6, TNF, INF- γ , IL-8) (Li *et al.*, 2009; Vargas *et al.*, 2005). À titre d'information, on peut également mentionner les niveaux anormalement hauts de 5-HT dans le contexte pro-inflammatoire des maladies intestinales inflammatoires (Ghia *et al.*, 2009).

On remarque également que la 5-HT est un élément crucial dans le développement des réactions d'hypersensibilité retardées (type 4) (Askenase *et al.*, 1991). Ajoutons aussi l'effet de la médiation par la 5-HT dans l'asthme (Lechin *et al.*, 1996; Matkar *et al.*, 1999) et la mastocytose (Kushnir-Sukhov *et al.*, 2008), deux maladies inflammatoires.

Le transporteur de sérotonine (5-HTT ou SERT)

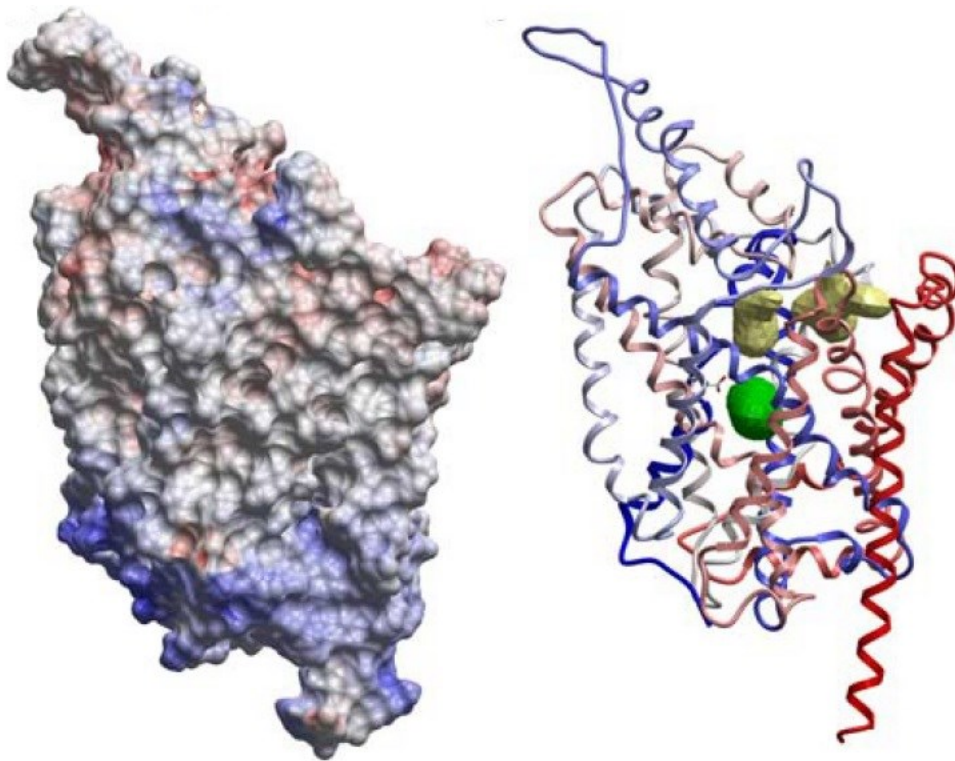


Figure 3. *Modèle moléculaire du SERT (Ravna et al., 2009)*

Le SERT est une glycoprotéine de 76 kDa formée de 630 acides aminés à 12 passages inter-membranaires (Qian *et al.*, 1995) faisant partie de la famille des transporteurs de neurotransmetteurs dépendant du sodium où sont inclus le SERT, le transporteur de dopamine

(DAT) et le NET (Saier, 2000). Son activité est dépendante de la présence d'ions Na^+ et Cl^- dans le milieu extra cellulaire (Marazziti *et al.*, 2010). Dans le SNC, le SERT localisé en présynaptique, régule négativement les concentrations de 5-HT dans la synapse sérotoninergique. Son activité homéostatique sur la 5-HT en fait une cible de choix (des traitements antidépresseurs de la classe des tricycliques et des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) (Rudnick et Sandtner, 2019). Il n'en demeure pas moins qu'il est la cible de drogues d'abus de la famille des amphétamines (Rudnick et Wall, 1992), de la cocaïne (Müller *et al.*, 2007) et de la 3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine (MDMA ou l'ecstasy) (Rudnick et Wall, 1992). L'effet de ces drogues est principalement attribué à leur action sur le DAT et à la hausse de DA dans le cerveau, mais les plus récentes données vont toutes dans le sens d'une reconnaissance du rôle de la 5-HT dans le processus de dépendance (Muller et Homberg, 2015). Notamment, dans les désordres d'impulsivité et de dépendance aux jeux d'argent (Kaasinen *et al.*, 2023) où la 5-HT située dans le cortex préfrontal joue un rôle majeur. Néanmoins, le SERT est étroitement régulé par divers mécanismes tels que sa phosphorylation, des interactions protéines-protéines, la transcription du gène même, son expression, et sa dégradation (Ramamoorthy *et al.*, 2011). La présence du SERT en périphérie est très bien documentée (Arreola *et al.*, 2015), et tel que mentionné précédemment, la 5-HT est omniprésente dans l'activité des cellules immunitaires. Ainsi, plusieurs cellules immunitaires ont la capacité de produire de la 5-HT (mastocytes, macrophages et lymphocytes T), et d'autres de l'entreposer via SERT (mastocytes, cellules dendritiques, lymphocytes B).

La dopamine (DA)

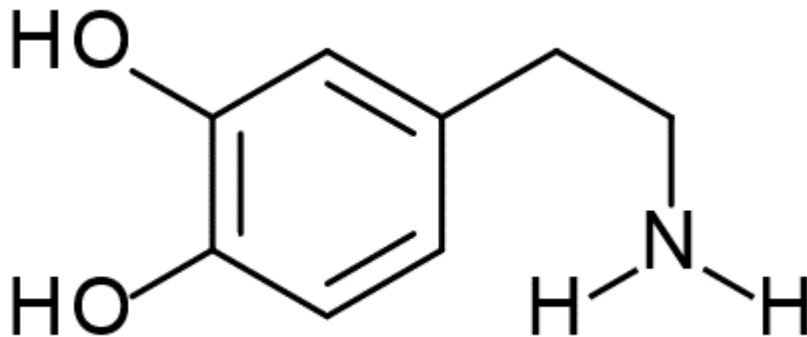


Figure 4. *Structure moléculaire de la dopamine*

La DA est une catécholamine produite à partir de ses précurseurs, l'acide aminé L-tyrosine donnant la L-DOPA, et consiste en elle-même un substrat pour la formation d'autres monoamines telles que la NE et l'adrénaline. Par la suite, comme pour la 5-HT, la DA (et la NE) utilisent essentiellement les mêmes mécanismes de transport vésiculaire VMAT et de régulation négative via MAO et COMT (Rodan *et al.*, 2015). Toutefois sa recapture se fait via le DAT présynaptique.

La DA est bien connue pour son rôle de neurotransmetteur dans SNC, pour la motivation, l'initiation des mouvements, l'attention, le circuit de la récompense, la mémoire, etc. Des dérèglements de la neurotransmission dans les trois voies dopaminergiques importantes (mésocorticale, méso-limbique et nigro-striatale) se manifestent dans les maladies comme le parkinson, la schizophrénie et la dépression.

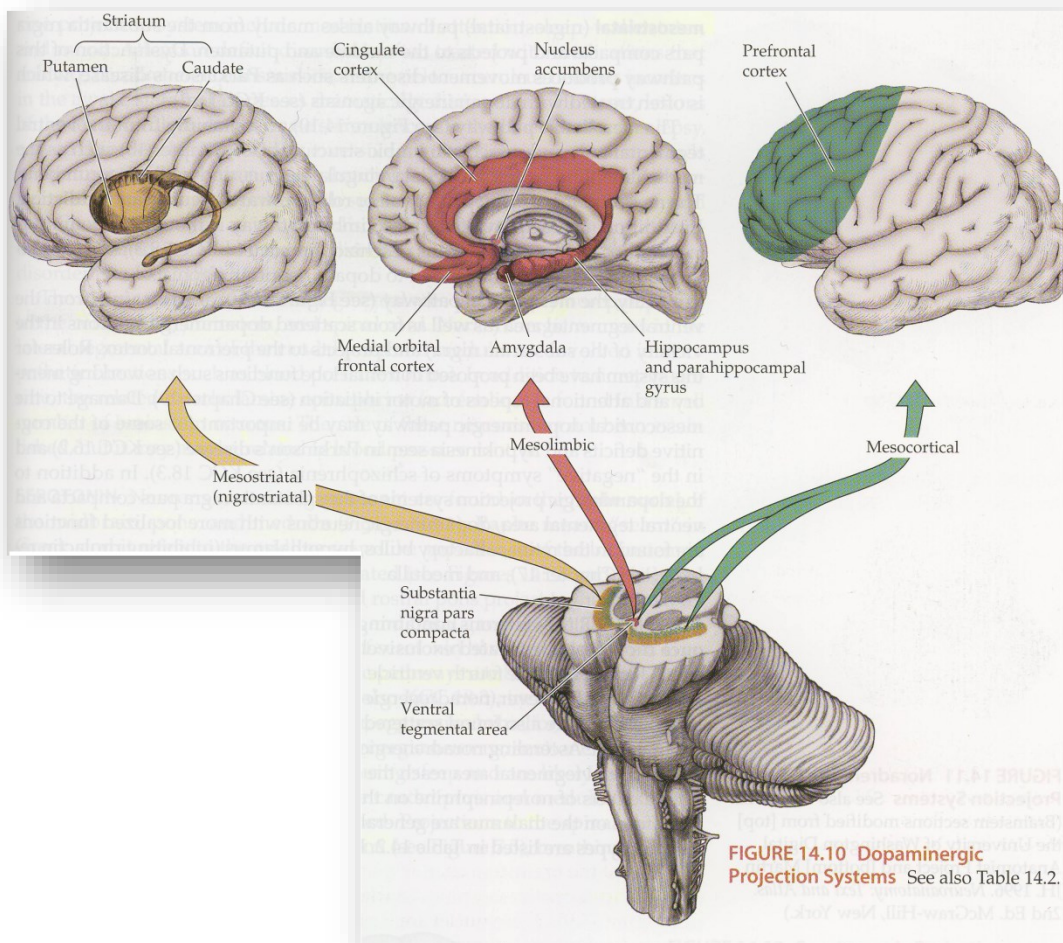


Figure 5. Schéma résumant les structures anatomiques impliquées dans les voies nerveuses dopaminergiques (Blumenfeld, 2010)

D'autre part, la DA est également impliquée en périphérie, entre autres dans le système nerveux sympathique (SNS) (Pacheco *et al.*, 2009), le contrôle vasomoteur (Tayebati *et al.*, 2011), la fonction rénale, la fonction cardiaque, l'immunité (Basu *et al.*, 2010), et dans la modulation de la douleur (Wood *et al.*, 2007; Taniguchi *et al.*, 2010). Au niveau du système immunitaire, les ganglions lymphatiques sont des structures bien innervées par les fibres autonomes du SNS qui relâche de la DA vers les cellules immunitaires : lymphocytes T, lymphocytes B et cellules

présentatrices d'antigènes (CPA) (Pacheco *et al.*, 2009). Ces mêmes cellules immunitaires produisent de la DA et sont capables d'en accumuler et d'en recapter via le DAT (Basu *et al.*, 2010). La DA posséderait des propriétés autant immunostimulatrices pour les lymphocytes T naïfs qu'antiprolifératives envers les lymphocytes T activés (Sarkar *et al.*, 2010). Cette ambivalence serait due à l'expression différentielle selon les populations de leucocytes des récepteurs de type D1 (couplé à une protéine Gs stimulant la production d'AMPc ayant un effet inhibiteur sur les facteurs de transcription de la prolifération tel Nf-kb) et de type D2 (couplé à une protéine Gi inhibant la production d'AMPc, donc un effet net activateur sur la prolifération) (Wang *et al.*, 2023). Au niveau de la modulation de la douleur, bien que les voies descendantes inhibitrices de sérotonine et noradrénaline soient bien caractérisées, celles de la dopamine demeurent moins connues. Plusieurs comorbidités qui présentent de la douleur chroniques sont associées à des niveaux hypo-dopaminergiques (Yang *et al.*, 2021). Au niveau du SNC, les neurones dopaminergiques pourraient avoir un pouvoir antinociceptif en inhibant les influx périphériques au niveau du thalamus (Wood *et al.*, 2007). Au niveau des fibres nociceptives périphériques, il existe cette même ambivalence entre les récepteurs D1 simulant la douleur et les récepteurs D2 inhibant la douleur. Au niveau du système nerveux périphérique (SNP), des voies dopaminergiques descendantes joueraient un rôle important dans la modulation de la douleur provenant des fibres nociceptives C et A δ . De fait, la DA en se liant à des récepteurs de type D2 des neurones de 2^e ordre des cornes dorsales (plus particulièrement au niveau de la substance gélatineuse) provoquerait un courant sortant hyperpolarisant via des canaux potassiques, réduisant ainsi la transmission de la douleur via la voie spino-thalamique (Taniguchi *et al.*, 2010). De plus, l'utilisation d'antagonistes spécifiques aux récepteurs D2 périphériques permet de renverser l'action antinociceptive de la DA (Queiroz *et al.*, 2022)

Le transporteur de dopamine (DAT)

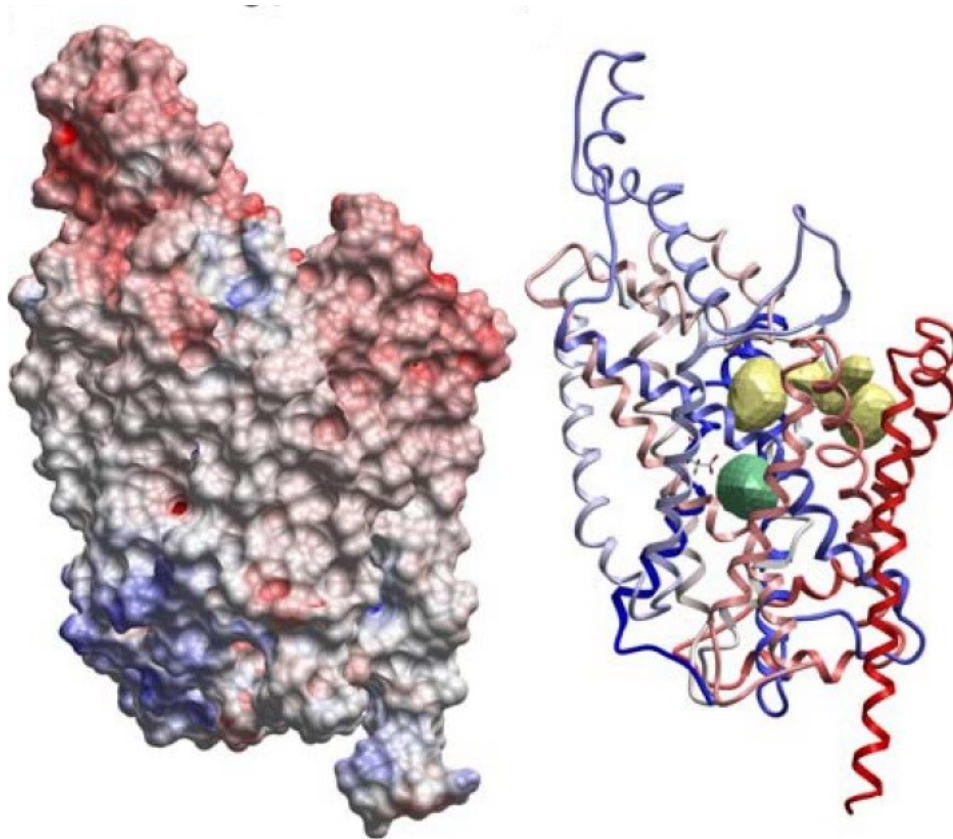


Figure 6. *Modèle moléculaire du DAT (Ravna et al., 2009)*

Le DAT est une glycoprotéine de 80 kDa formée 610 acides aminés possédant 12 passages intermembranaires, et son activité est dépendante de la présence d'ions Na^+ et Cl^- dans le milieu extra cellulaire comme pour le SERT (Marazziti *et al.*, 2010). Le DAT joue un rôle majeur pour réguler négativement les concentrations de DA dans les synapses dopaminergiques (Zhu et Reith, 2008). Par exemple, la cocaïne et les amphétamines altèrent l'action du DAT résultant en des concentrations plus élevées de DA dans le cerveau, causant ainsi les effets bien connus de ces psychostimulants : tachycardie, mydriase, hausse de la pression artérielle, agitation, etc.

(Klega et Keehbauch, 2018). La fonction et l'expression du DAT au niveau de la membrane cellulaire est également étroitement régulée par plusieurs voies de signalisation, entre autres par la phosphorylation/déphosphorylation et via des interactions protéines-protéines (Foster et Vaughan, 2017). On retrouve également le DAT en périphérie au niveau des lymphocytes et des plaquettes (Frankhauser *et al.*, 2006; Marazziti *et al.*, 2017). Contrairement au SNC, le rôle exact du DAT dans la modulation des activités immunologiques en périphérie reste encore à être élucidé.

Rôle clinique des monoamines en dépression et fibromyalgie

De nos jours, il n'existe pas de biomarqueurs sanguins, de marqueurs génétiques ou de marqueurs radiologiques validés et confirmés dans le diagnostic de la MDD et la FM. Nous aimerions toutefois vous présenter une revue sommaire des pistes diagnostiques trouvées à ce jour.

Imagerie cérébrale

En MDD, il existe plusieurs pistes d'investigation d'imagerie médicale, telles que résonance magnétique (IRM) et la tomographie par émission par position (TEP). L'IRM permet d'imager la morphologie du SNC en MDD, et on a observé une diminution de la matière grise dans le cortex cingulaire (Lai, 2013), une zone du cerveau impliquée dans les fonctions cognitives et affectives. Une baisse du volume de l'hippocampe, cette dernière contribuant au fonctionnement de la mémoire, semble présente en MDD (Malykhin et Coupland, 2015). D'autres anomalies structurelles font l'objet de recherche comme l'insula, le thalamus et le cortex frontal (Zhang *et al.*, 2016). L'IRM fonctionnelle permet de détecter des anomalies dans l'activité cognitive au

niveau du cortex préfrontal et du cortex cingulaire, ce qui peut refléter des réponses émotionnelles négatives, un déficit de l'attention, et l'anhédonie en MDD (Corbetta et Shulman, 2002). De plus, on observe une plus grande activité neuronale dans la zone nommée le « nexus dorsal », région comprise dans le cortex préfrontal dorsomédial. Cette zone est impliquée dans les symptômes de rumination, dérégulation émotionnelle et végétative (Sheline *et al.*, 2010).

L'utilisation de l'IRM fonctionnelle pour prédire la réponse au traitement pharmacologique fait aussi l'objet d'un sujet d'actualité (Kang et Cho, 2020). En ce qui concerne la modalité radiologique du TEP, elle utilise l'isotope ^{18}F -FDG en lien avec le métabolisme du glucose pour mieux évaluer l'activité neuronale. On observe une baisse de l'activité neurologique au niveau du noyaux caudé droit, du cortex cingulaire, du noyau lentiforme gauche, du putamen et de l'insula, tandis qu'il y a une hausse de l'activité au niveau du thalamus droit, du lobe postérieur, et du vermis gauche. Ces changements détectés pourraient être en lien avec la physiopathologie de la MDD (Su *et al.*, 2014). Au niveau du système sérotoninergique, l'isotope ^{11}C -WAY-100635 se liant au récepteur $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ se retrouve en plus grande quantité chez les patients dépressifs dans les régions du cortex cingulaire, l'amygdale, le cortex préfrontal dorsolatéral et l'hippocampe (Miller *et al.*, 2013). Le $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ est un récepteur auto-inhibiteur, et s'il se trouve en grande quantité dans le cerveau, il abaisse ainsi le niveau de 5-HT relâché. Le SERT est une autre cible largement étudiée pour évaluer la MDD. Le radiotracer utilisé ($4\text{-}^{18}\text{F}$ -ADAM) semble démontrer une baisse du SERT en MDD dans les études les plus récentes (Yeh *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2013; Yeh *et al.*, 2015). Toutefois, un autre radiotracer nommé ^{11}C -DASB se liant au SERT, affiche des résultats contradictoires à la suite de nombreuses études, c'est-à-dire, soit une baisse du SERT en MDD (Meyer, 2007) ou plus récemment une hausse (Smith *et al.*, 2021). Ceci démontre que la littérature sur l'expression du SERT en MDD fait place à un

débat où il n'existe toujours pas de consensus dans la communauté scientifique. (Nous élaborerons sur cet enjeu ultérieurement dans la section « Études sur les biomarqueurs périphériques » de ce même chapitre.)

L'activité dopaminergique a également été évaluée en TEP dans le contexte de la MDD. L'isotope ^{11}C -Raclopride se lie aux récepteurs de D2/D3 de manière plus importante en MDD dans le striatum, ce qui pourrait être corrélé aux symptômes anxieux. Cependant, ces résultats demeurent en contradiction avec plusieurs rapports antérieurs (Peciña *et al.*, 2017). Le radiotracteur $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -TRODAT-1 se lie au DAT avec une bonne affinité et la majorité des études récentes en MDD affichent une augmentation de sa présence (Camardese *et al.*, 2014). Le radiotracteur ^{123}I -FP-CIT se lie au DAT, mais peut aussi se lier au SERT, ainsi son affinité est moins bonne que $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -TRODAT-1. Des études plus anciennes, comme celle de Sarchiapone *et al.* (2006), ont observé une baisse du DAT en MDD.

En FM, comme pour la MDD, des techniques d'imagerie telles que l'IRM et la TEP ont été étudiées. L'IRM a imagé le SNC en FM, et certains auteurs ont remarqué une diminution significative des zones de matière blanche dans le cortex cingulaire gauche et le cortex orbitofrontal gauche (Jensen *et al.*, 2013). D'autres données semblent observer des changements importants dans la matière grise, à savoir : A - une augmentation dans le cortex orbitofrontal, le cervelet, les noyaux gris centraux, le cortex cingulaire, et le cortex insulaire; B- une diminution dans le gyrus temporal supérieur, le thalamus, l'amygdale, et la substance grise périaqueducale (Diaz-Piedra *et al.*, 2016). L'IRM fonctionnelle est une autre modalité utilisée en FM, et elle a démontré une activité neuronale augmentée dans le cortex insulaire, le cervelet, l'amygdale et le thalamus (Jensen *et al.*, 2012) ainsi ce phénomène pourrait être associé à une augmentation

des perceptions centrales nociceptives. Au niveau du SNP en FM, l'IRM fonctionnelle a détecté des changements significatifs en lien avec les réponses à la douleur entre les patients FM et les volontaires sains (VS) au niveau de l'activité du tronc cérébral et de la moelle épinière (Ioachim *et al.*, 2022).

D'autre part, comme pour la MDD, la TEP utilise l'isotope ^{18}F -FDG pour étudier l'activité neuronale en FM. De manière générale, l'imagerie en FM avec cet isotope est complexe (Ricci *et al.*, 2022). Néanmoins, on observe des zones hypo-métaboliques dans plusieurs régions corticales et sous-corticales en lien avec la FM (Egloff *et al.*, 2009). Un autre isotope utilisé pour mesurer l'activité dopaminergique (^{18}F -DOPA) permet de mieux apprécier les changements dans la modulation de la douleur de la DA mésolimbique en douleur chronique (Baliki *et al.*, 2010). À cet égard, les isotopes ^{11}C -Raclopride (Wood *et al.*, 2007) et ^{18}F -fallypride (Albrecht *et al.*, 2016) ont permis d'étudier l'activité des récepteurs D2/D3 et D2 seuls respectivement. Ces deux derniers isotopes nous aident à mieux évaluer les changements dans le métabolisme de la DA dans la perception de la douleur en FM. Au niveau de la 5-HT, il n'existe pas de marqueurs ayant étudié son impact dans l'imagerie par TEP, ni d'étude ayant mesuré le SERT en FM. Toutefois, Ledermann *et al.* font l'hypothèse qu'il existe un effet indirect de la 5-HT dans la FM en étudiant les patients présentant des polymorphismes du récepteur 5-HT-3. De fait, la mesure de la liaison du traceur ^{11}C -Raclopride dans le système dopaminergique semble étayer leur hypothèse (Ledermann *et al.*, 2020). Notons que le DAT n'a pas été étudié en TEP pour l'évaluation de la FM.

Bref, plusieurs pistes d'imagerie médicale ont été avancées en IRM et TEP. Malgré cela, aucun de ces traceurs n'a pu être validé comme marqueur clinique de la MDD ou de la FM. De plus,

l'imagerie médicale est couteuse et difficile d'accès hors des grands centres hospitaliers (Ricci *et al.*, 2022).

Études génétiques

En MDD, la maladie semble être affectée par plusieurs gènes impliqués soit dans la réponse au traitement, ou dans la neurotransmission des monoamines (Gadad *et al.*, 2018). À cet effet, voici quelques exemples importants. À titre d'illustration, on a identifié des polymorphismes de résistance au traitement dans le gène MDR1 (Mihaljevic *et al.*, 2008). Pour la 5-HT, un des polymorphismes le plus étudié demeure celui du SERT nommé 5-HTTLPR (mutation SLC6A4) qui semble être associé à une différence de réponse au traitement aux SIRS (Mrazek *et al.*, 2009), mais ceci demeure une controverse (Serretti *et al.*, 2013). Pour la DA, une mutation de l'enzyme COMT (gène rs4680) semble réduire son activité de dégradation de la DA, et sa présence est associée à une meilleure réponse au traitement (Kocabas *et al.*, 2010). La présence d'une mutation augmentant l'activité de la MAO, qui a pour rôle de dégrader les monoamines, va nécessairement diminuer les niveaux de DA et 5-HT et contribuer aux symptômes dépressifs (Naoi *et al.*, 2018). Pour le glutamate, le polymorphisme du récepteur ionotrope kainite (GRIK) est associé à une meilleure réponse au traitement (Pu *et al.*, 2013). À cet égard, la recherche de mutations parmi les enzymes du cytochrome P450 a permis de mieux caractériser leur impact sur le métabolisme des médicaments en MDD, et peut possiblement aider à mieux prédire la réponse au traitement (Porcelli *et al.*, 2011).

En FM, de nombreux polymorphismes prédisposant à la maladie ont été identifiés, et on en cite jusqu'à 30 dans cette revue (Janssen *et al.*, 2021). Les plus importants de ces polymorphismes sont associés aux gènes codant pour les protéines suivantes : MAO, COMT, SERT et les

récepteurs opioïdes $\mu 1$. Les mutations des récepteurs androgéniques semblent aussi associées à la susceptibilité à la FM. Pour le DAT, le polymorphisme DAT-1 semble lié à une moins bonne tolérance au froid (Treister *et al.*, 2009)

Études sur les biomarqueurs périphériques

La recherche de biomarqueurs de la MDD et la FM est un sujet assez populaire dans la communauté scientifique, ce qui a mené à l'identification de plusieurs cibles potentielles. Dans ce qui suit, nous allons présenter la revue des marqueurs potentiels accessibles en périphérie. En MDD, l'axe neuroendocrinien hypothalamus-hypophyse-surrénalien (HHS) semble être plus actif chez les patients dépressifs, ainsi des mesures de cortisol plus élevées sont détectées (Schüle *et al.*, 2009). Cette hausse de cortisol semble même être associée à des risques de récurrence de dépression (Zobel *et al.*, 2001). La présence de marqueurs inflammatoires, comme TNF- α , IL-1, IL-6, sont plus élevés chez les patients qui ne répondent pas au traitement pharmacologique (Strawbridge *et al.*, 2015). Au niveau du bilan lipidique, on observe une hausse des triglycérides et une baisse des « very low-density lipoproteins » (VLDL) ainsi que des « high-density lipoprotein » (HDL) (Bot *et al.*, 2019). La présence d'anticorps contre les « heat-shock proteins » (HSP) qui jouent un rôle protecteur antioxydant, pourraient contribuer au stress oxydatif en dépression (Bahrami *et al.*, 2019)

En FM, on observe une augmentation de la présence d'IL-8 et de MCP-1 qui semblent provenir de la présence d'un plus grand nombre de mastocytes (Blanco *et al.*, 2010). Comme pour la MDD, l'axe HHS est altéré de façon significative avec une baisse du cortisol du, le matin, et une hausse en soirée (Crofford, 2004). Il a été suggéré que la présence d'anticorps contre la 5-HT pourrait être une cause de symptômes de FM, mais ces résultats demeurent controversés

(Werle *et al.*, 2001). Également, les récepteurs Mu à la surface des lymphocytes B sont statistiquement abaissés en FM, ce qui peut suggérer une piste potentielle de biomarqueur (Raffaelli *et al.*, 2020). Par ailleurs, d'autres marqueurs potentiels sont proposés dans la revue de Hackshaw (2021).

En ce qui a trait à la DA, l'hypothèse dopaminergique la plus à jour suggère une baisse de sa neurotransmission au niveau central dans la MDD (Belujon et Grace, 2017). Pour ce qui est du DAT, on retrouve dans la littérature des résultats opposés au sujet de son expression. D'une part, il y aurait une diminution de l'expression de la protéine du DAT pour la MDD dans plusieurs régions du cerveau, tel qu'observé dans plusieurs études d'imagerie TEP (Meyer *et al.*, 2001; Sarchiapone *et al.*, 2006). De fait, on croit que la baisse d'expression du DAT dans le cerveau est une réaction physiologique face à la baisse des concentrations de DA. Toutefois, plus récemment, on a mesuré une augmentation de sa présence en MDD (Camardese *et al.*, 2014) ce qui remet en doute la théorie la plus acceptée. À cet effet, Camardese *et al.* suggèrent qu'une augmentation du DAT peut aussi représenter un mécanisme compensatoire afin de contrôler la hausse de DA dans certaines conditions de dépression encore mal expliquées. Dans la FM, la libération anormale de DA au SNC (Wood, Schwinhardt *et al.*, 2007) et au SNP (Stahl, 2009) en réponse à des stimulations douloureuses, affecterait la capacité de ces patients à bien moduler la sensation de la douleur. Au niveau du SNC, il y aurait une diminution de l'expression du DAT dans le cortex préfrontal dans la FM (Stahl, 2008). À défaut d'avoir de la littérature sur l'humain, la mesure du SERT *in vivo* dans un modèle de rat pour la FM, affiche une baisse de son expression (Murai *et al.*, 2015).

En ce qui concerne la 5-HT, l'hypothèse sérotoninergique la plus acceptée suggère également une baisse de la neurotransmission dans le SNC. Toutefois, tout récemment, cette hypothèse a été remise en question par une revue systématique, ce qui a plutôt ébranlé la communauté scientifique (Moncrieff *et al.*, 2022). Moncrieff *et al.* avancent même que les niveaux de 5-HT pourraient être au contraire élevés en MDD et que le rôle de la 5-HT n'est pas si central dans la physiopathologie de la maladie. Ces conclusions demeurent toutefois controversées et la critique a reproché d'avoir trop simplifié les données scientifiques et de ne pas avoir bien évalué l'impact de cette divulgation sur l'opinion publique (Rhimer *et al.*, 2022).

Au niveau du SERT, les publications des 20 dernières années affichent des résultats contradictoires sur son expression réelle en MDD (Smith *et al.*, 2021; Yeh *et al.*, 2015). D'une part, la densité de la protéine serait plus importante sur la membrane du neurone durant des épisodes de MDD (Meyer, 2007). Ainsi, contrairement à l'hypothèse dopaminergique, pour la 5-HT une partie de l'explication pathologique des taux abaissés serait la conséquence d'une augmentation de la recapture de celle-ci par le SERT. Toutefois, des données plus récentes observent plutôt une baisse du SERT en MDD (Smith *et al.*, 2021). Ce qui mène à remettre en doute les théories sérotoninergiques amplement débattues dans la revue systématique controversée de Moncrieff *et al.* (2022). Au niveau de l'expression du SERT sur cellules sanguines périphériques, les données sont discordantes. Pour les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC), incluant les monocytes et les lymphocytes, l'acide ribonucléique messager (ARNm) du SERT serait surexprimé dans la MDD dans une étude (Tsao *et al.*, 2006). Cependant, pour les lymphocytes seuls, la majorité des études observent une baisse de la protéine (Fazzino *et al.*, 2008; Fazzino *et al.*, 2009; Lima et Urbina, 2002; Peña *et al.*, 2005; Urbina *et al.*, 1999) ou une baisse de l'ARNm (Lima *et al.*, 2005). Dans le sang total, on observe

une augmentation du SERT en MDD au niveau de l'ARNm (Iga *et al.*, 2016). Toutefois, pour la FM, la protéine SERT serait moins dense sur les plaquettes (Bazzichi *et al.*, 2006).

Études sur le plasma

Le plasma contient une grande quantité de neurotransmetteurs comme la 5-HT (Herr *et al.*, 2017) et la DA (Matt et Gaskill, 2020) nécessaires à la fonction immunitaire. En MDD, peu de travaux ont mesuré la 5-HT pour détecter s'il existe une différence avec la population saine. Par exemple, on mesure une augmentation des niveaux de 5-HT dans les cas de patients adolescents suicidaires (Tyano *et al.*, 2006). Cependant, on observe une baisse de 5-HT, mais pas de DA dans des cas de dépression post-partum (Xie *et al.*, 2018). Toutefois, d'autres résultats plus récents n'observent pas de différence significative des niveaux plasmatiques de 5-HT en dépression post-partum (Huang *et al.*, 2022).

D'ailleurs, il n'y a que très peu de littérature ayant mesuré les niveaux sériques de 5-HT et de DA en FM. De fait, il semble que les niveaux de 5-HT sont plus élevés dans le plasma des patients souffrant de douleur et d'anxiété en FM (Ernberg *et al.*, 2000). Toutefois, des résultats plus récents détectent plutôt une baisse de 5-HT sérique chez les patients nouvellement diagnostiqués avec de la FM (Al-Nimer *et al.*, 2018). Pour la DA, on aurait mesuré en FM les catécholamines plasmatiques, dont fait partie la DA, et il n'y aurait pas de variation significative par rapport aux sujets sains (Yunus *et al.*, 1992).

Intérêt de l'étude

Biomarqueurs périphériques

Notre intérêt porte sur l'étude potentiel du SERT et du DAT comme biomarqueur périphérique pour la MDD et de la FM, deux maladies mentales pour lesquelles plusieurs biomarqueurs ont été proposés sans qu'aucun ne soit globalement accepté en recherche et ni en clinique jusqu'à maintenant (Zwolińska *et al.*, 2023; Hackshaw, 2021).

À notre connaissance, il n'existe aucune étude évaluant l'expression de la protéine ou de l'ARNm du DAT en périphérie pour le cas de la MDD ou de la FM. Toutefois, pour le SERT, il existe déjà plusieurs données à ce sujet (voir Tableau I). En utilisant comme modèle les PBMC, il serait intéressant d'étudier si les altérations du DAT en périphérie reflètent celles qui sont présentes dans le cerveau. En ce qui concerne le SERT, nous aimerions faire la lumière en MDD sur la discordance des observations qui ont été mesurées, soit en baisse ou en hausse de l'expression de ce transporteur au niveau des PBMC. De plus, nous visons à mieux comprendre s'il existe une différence entre l'expression de l'ARNm versus celle de la protéine pour la MDD, et confirmer ce qui est déjà observé en FM (Tableau I).

Dans le cadre de cette étude, nous voulons inclure un grand nombre de patients, et l'étude de l'expression de l'ARNm nous paraît la meilleure méthode puisque les techniques de détection de l'ARNm, comme la réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCRq), sont beaucoup plus sensibles et plus rapides à utiliser que celles disponibles pour les protéines comme le Western Blot.

À l'heure actuelle, il n'existe pas de biomarqueurs spécifiques à ces deux pathologies. Néanmoins, le SERT périphérique semble peu à peu se démarquer comme un possible marqueur de la MDD (Mössner *et al.*, 2007) et de la réponse au traitement antidépresseur (Fazzino *et al.*, 2008; Fazzino *et al.*, 2009; Lima et Urbina, 2002; Peña *et al.*, 2005; Urbina *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2005). Le résumé des observations de la littérature est présenté dans le tableau I.

Tableau I. Revue de la littérature au sujet des différences d'expression du DAT et du SERT en FM et MDD par rapport aux volontaires sains, au niveau du SNC et en périphérie.

	SNC			Périphérie		
<i>FM</i>	↓ DAT	Protéine	Stahl (2008)	DAT		s/o
	↑ SERT (rats)	Protéine	Murai <i>et al.</i> (2015)	↓ SERT	Protéine	Bazzichi <i>et al.</i> (2006)
<i>MDD</i>	↓ DAT	Protéine	Sarchiapone <i>et al.</i> (2006)	DAT		s/o
	↑ DAT	Protéine	Camardese <i>et al.</i> (2014)			
	↑ SERT	Protéine	Meyer <i>et al.</i> (2007)	↑ SERT	ARNm	Tsao <i>et al.</i> (2006)
	↓ SERT	Protéine	Smith <i>et al.</i> (2021) Yeh <i>et al.</i> (2015)	↓ SERT	ARNm	Iga <i>et al.</i> (2016)
					Protéine	Fazzino <i>et al.</i> (2009)
Protéine					Fazzino <i>et al.</i> (2008)	
Protéine					Pena <i>et al.</i> (2005)	
				ARNm	Lima <i>et al.</i> (2005)	
				Protéine	Lima et Urbina (2002)	
				Protéine	Urbina <i>et al.</i> (1999)	

Traitement par la quétiapine

Notre intérêt porte également sur l'effet du traitement par la quétiapine que reçoivent ces trois populations de patients (FM, MDD et FM/MDD). La quétiapine est un antipsychotique atypique accepté au Canada comme monothérapie dans le traitement de la MDD réfractaire aux ISRS, et comme traitement d'appoint pour la FM (Marchand, 2011). La pharmacodynamique de la quétiapine dans le SNC est cependant complexe car elle possède un effet positif sur le relâche de 5-HT, de NE et de DA dans le SNC.

Pour le 5-HT, la quétiapine semble augmenter les niveaux synaptiques de sérotonine par la modulation des récepteurs 5-HT_{1A} et l'inhibition du récepteur 5-HT_{2A}. En effet, la capacité de la quétiapine d'augmenter la sensibilité et de jouer un rôle d'agoniste sur le 5-HT_{1A} post-synaptique, joue un rôle crucial dans l'amélioration de la neurotransmission de 5-HT. De plus, son effet d'antagoniste sur le 5-HT_{2A}, un récepteur ayant des propriétés inhibitrices, amplifie ce mécanisme. Cependant, il est important de mentionner que la quétiapine n'a pas d'effet pharmacodynamique direct sur le SERT (Prieto *et al.*, 2010).

Pour la DA, son effet antagoniste sur le récepteur 5-HT_{2A} permettrait de désensibiliser ce même récepteur afin de diminuer les effets inhibiteurs des neurones sérotoninergiques sur la relâche de DA dans le cortex préfrontal, région impliquée dans certains symptômes de la MDD, comme la motivation et la concentration (Pietro *et al.*, 2010).

À notre connaissance, personne ne s'est encore intéressé aux effets de la quétiapine sur le SERT et le DAT en périphérie.

Hypothèses et objectifs

L'état actuel des connaissances tel que décrit ci-dessus, nous amène à formuler l'hypothèse que l'expression du SERT est régulée à la baisse sur les PBMC des patients FM, MDD et FM/MDD, par rapport aux volontaires sains. De plus, le traitement médicamenteux avec la quétiapine ramène à la normale les niveaux de SERT chez ces patients. Nous ciblons trois objectifs spécifiques dans cette étude :

- 1) Évaluer l'expression de l'ARNm du SERT dans les PBMC de patients souffrant de MDD, de FM et de FM/MDD, par rapport aux VS ;
- 2) Étudier l'effet du traitement par la quétiapine sur l'expression de l'ARNm du SERT chez les patients FM, MDD et FM/MDD;
- 3) Explorer l'expression de l'ARNm de DAT chez les trois groupes de patients et chez les VS, pour fins de comparaison avec le SERT.

Chapitre II : Article

Serotonin transporter mRNA expression is reduced in peripheral blood mononuclear cells of subjects with major depression but normal in fibromyalgia

Gaël Villanueva-Charbonneau, MD ^{1,2}; Stéphane Potvin, PhD ^{2,3} *; Serge Marchand, PhD ⁴;
Alexander McIntyre, MD ⁵; Diane McIntosh, MD ⁶; Alain Bissonnette, MD ⁷; Alain Gendron,
PhD ⁸; Charles-Édouard Giguère, MSc ²; Marie-Ève Koué, MSc ⁹; Édouard Kouassi, PhD ^{2,10}

¹ Département de Pharmacologie et Physiologie, Université de Montréal, Montréal,
Québec, Canada

² Centre de recherche de l'Institut Universitaire en Santé Mentale de Montréal; Montréal,
Quebec, Canada

³ Department of psychiatry and addiction, University of Montreal; Montreal, Canada

⁴ Department of surgery, Faculty of medicine, University of Sherbrooke; Sherbrooke,
Canada

⁵ Penticton Regional Hospital, Penticton, British Columbia, Canada

⁶ Department of Psychiatry, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada

⁷ Clinique du Campanile, Québec, Québec, Canada

⁸ AstraZeneca Pharmaceuticals

⁹ Department of biochemistry and molecular medicine, University of Montreal, Montreal,
Canada

¹⁰ Department of medicine and medical specialities, University of Montreal; Montreal,
Canada

*** Corresponding author**

Stéphane Potvin, PhD; Centre de recherche de l'Institut Universitaire en Santé Mentale de Montréal; 7331 Hochelaga; Montreal, Quebec, Canada; H1N 3V2

Abstract

Background Fibromyalgia (FM) and major depression disorder (MDD) are frequent comorbidities. Both disorders may share common serotonergic alterations. However, there is less evidence of such alterations in FM than in MDD. It is also unclear whether these alterations are persistent over time or transient. **Objectives** The objective of this study was to (i) examine the changes in mRNA expression of SERT on the surface of peripheral blood mononuclear cells in FM, MDD and the FM+MDD subjects compared to healthy controls; and to (ii) evaluate the effect of drug treatment (quetiapine and various antidepressants) on the expression of SERT in these subjects. Exploratory analyses on the mRNA expression of the dopamine transporter (DAT) were also performed. **Methods** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were used and isolated from FM, MDD and FM+MDD subjects, and healthy controls. SERT and DAT expression were analysed at the mRNA level by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). Statistical analyses were performed using analyses of variance and linear mixed-effects models. **Results** The mRNA expression of SERT was significantly reduced in MDD subjects compared to healthy controls ($p < 0.001$), but not in FM nor in FM+MDD subjects. Although drug treatments improved symptoms in FM, MDD and FM+MDD subjects, they had no significant effect on SERT mRNA expression. The SERT mRNA was readily detectable in all PBMC samples analysed. Comparatively, the mRNA expression of DAT was undetectable

in several participants. **Discussion** These results corroborate the role of the SERT in the pathophysiology of MDD, but not in FM. They also show that the decreased mRNA expression of SERT is a persistent rather than transient phenomenon.

Keywords: Dopamine transporter, serotonin transporter, major depression, fibromyalgia, quetiapine

Introduction

There has been an ongoing interest in identifying biomarkers related to mood and pain disorders. Despite high comorbidity rates, especially in the case of major depressive disorder (MDD) and functional pain syndromes, such as fibromyalgia (FM), few studies have focused on their frequent co-occurrence. Fibromyalgia (FM) affects between 0.2 % and 6.6 % of the population worldwide (Marques et al., 2017). It is a complex disorder defined by widespread pain and tenderness in up to 19 areas of the body lasting for at least 3 months (Galvez-Sánchez and Reyes Del Paso, 2020). According to the *World Health Organization* (WHO), MDD affects approximately 280 million people worldwide and is one of the leading causes of disability (WHO, 2023). It is characterised by the presence, for two or more weeks, of depressive mood and/or anhedonia and at least five of nine depressive symptoms. The diagnoses of MDD and FM commonly co-occur, with up to 80% of subjects suffering of FM meeting the diagnostic criteria for MDD (Fietta et al., 2007) and 65 % of MDD subjects reporting significant pain symptoms, including FM (Løge-Hagen et al., 2019). The high co-occurrence of FM and MDD suggests the need to identify biomarkers that are common and specific to both disorders.

The serotonin (5-HT) hypothesis, which states that the risk of developing depression is associated with a reduction in 5-HT levels, remains a prominent theory and a focus of research

to develop more effective MDD treatments (Albert and Benkelfat, 2013). The main medication classes prescribed for the treatment of MDD, the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs), directly bind to and modulate (Malhi et al., 2021), the serotonin transporter (SERT). One aspect of the serotonin hypothesis proposes that SERT expression is elevated in MDD, leading to a reduction in 5-HT concentrations available in the synapse (Meyer et al., 2007). By blocking the SERT, SSRIs and SNRIs reduce 5-HT reuptake by synaptic cells, rapidly restoring levels of 5-HT in the synapse and, over several weeks, various serotonin receptors respond to the heightened 5-HT level, leading to a range of downstream biochemical effects. Several studies have shown associations between functional polymorphisms of the promoter region of SERT gene and the risk to develop depression (Houwing et al., 2017).

While the serotonin hypothesis has been quite influential, unequivocally demonstrating its validity has posed a significant challenge. Several positron emission tomography (PET) studies have found that subjects with MDD have reduced SERT binding - although a few of them found an increase (Nikolaus et al., 2016; Kambeitz et al., 2015; Gryglewski et al., 2016). This lower SERT binding, compared to controls, has been interpreted as a compensatory response to decreased synaptic 5-HT levels associated with MDD. It must be noted, however, that the reduction in SERT binding was generally small and inconsistent across studies and it is unclear if results are primary or secondary to antidepressant intake (Moncrieff et al., 2022). Likewise, genetic studies have failed to show an association between SERT genetic variants and MDD (Border et al., 2019). This lack of association has led some investigators to emphasize the importance of studying gene-environment interactions (e.g., epigenetics) (Bleys et al., 2018). Notably, the SERT is present in the brain but also in the peripheral blood, particularly on the

surface of peripheral blood mononuclear cells (PBMC), monocytes and lymphocytes, where it has a broad role (Gershon et al., 2007; Pacheco et al., 2009). For example, various 5-HT receptors are expressed on the surface of T and B -lymphocytes, and on antigen-presenting cells; their stimulation can contribute to inflammation, phagocytosis, migration, and cytokine production as demonstrated in various human and animal models (Abdouh et al, 2004; Kushnir-Sukhov et al., 2007; Leon-Ponte et al., 2007; Nakamura et al., 2008; O'Connell et al., 2006). In recent years, a growing number of studies have examined the expression of the SERT on blood immune cells in MDD. Most studies detected a reduction in its expression in lymphocytes of MDD both at the mRNA (Lima et al., 2005) and protein level (Fazzino et al., 2009; Pena et al., 2005; Lima & Urbina, 2002; Urbina et al., 1999), although increases in mRNA expression have also been observed in PBMC (Tsao et al., 2006). The impact of drug treatment, based on these results, remains to be determined, as well Fazzino et al., 2009; Pena et al., 2005; as the impact of important comorbid conditions, such as chronic pain.

Serotonin is also known to play a key role in the neurobiology of pain. It has been well established that 5-HT release from neurons in the rostral-ventral medulla dampen nociceptive afferents at the dorsal horn level of the spinal cord (Gackière et al., 2014), producing diffuse analgesic effects. The involvement of 5-HT in pain modulation is of clear interest in the case of FM, considering that it is chronic pain condition characterized by diffuse pain symptoms likely arising from deficient inhibitory conditioned pain modulation mechanisms (Potvin & Marchand, 2016). Thus far, genetic studies that have examined the 5-HT_{1A} receptor and 5-HT_{2A} receptor gene polymorphisms, as well as studies measuring 5-HT blood levels, have produced mixed results (Tanwar et al., 2021; Heddini et al., 2014; Al-Nimer et al., 2018). In the case of the

SERT, two genetic studies (one PET study and one study on gene expression) have also produced mixed results (Ellerbrock et al., 2021; Tour et al., 2022).

As compared to the treatment of MDD, SSRIs have shown only small benefits in FM (Ferreira et al., 2023), establishing the need to find other treatment alternatives. Several randomized-controlled trials have demonstrated that quetiapine, a second-generation antipsychotic, effectively treats mood symptoms in MDD (Chi-Un Pae et al., 2010). Although this is less well established, there is growing evidence that quetiapine may be beneficial for the treatment of FM (Potvin et al., 2012) as well as the treatment of subjects with co-morbid MDD and FM (McIntyre et al., 2014). This drug increases 5-HT levels in the brain through its modulation of post-synaptic 5-HT_{1A} receptors and inhibition of 5-HT_{2A} receptors (Horacek et al., 2006). However, it is important to note that quetiapine has no direct effect on SERT (Pietro et al., 2010). To date, there are no studies looking at the SERT mRNA expression in the population with a co-morbid of MDD and FM. Moreover, we are not aware of any available research regarding the effect of quetiapine on the mRNA expression of SERT in the peripheral blood.

In view of the current state of knowledge, the main objectives of our work were (1) to measure the levels of mRNA expression in the PBMC of the SERT in subjects affected by MDD or FM and those with both conditions, and (2) to evaluate the effect of quetiapine on the mRNA expression of SERT in FM and FM+MDD, as well as the effect of various antidepressants in MDD. For exploratory purposes, we also measured the mRNA expression of the dopamine transporter (DAT) in all groups, because dopamine is a likely mediator of the cardinal symptoms of anhedonia in MDD. Additionally, dopamine may play a complex and yet poorly understood role in the pathophysiology of FM (Wood et al., 2007; Taniguchi et al., 2011). Based on the

available literature, we expect to observe a reduction in the SERT mRNA expression on PBMCs in MDD, FM and FM+MDD subjects.

Methods

Participants

Three study groups were recruited, based on the three diagnostic categories: MDD with no chronic pain (n=50); FM subjects (n=55); and subjects with MDD and FM (n=120). DSM-IV criteria were used for MDD selection and the *American College of Rheumatology* 1990 criteria for FM. Subjects in the FM+MDD group were washed out from their previous antidepressant treatment. In the FM group, subjects were allowed to continue their previous medication. In the MDD group, subjects were excluded if they met the criteria for any DSM-IV Axis I disorder other than MDD. Across groups (FM, FM+MDD & MDD), other exclusion criteria included: subjects currently prescribed an antipsychotic, pregnancy, female of childbearing potential without adequate contraception, current risk of suicide, neurologic disorders, substance use disorders, any unstable physical illness, and diabetes mellitus. A group of healthy subjects (n=62) was also included, with no chronic pain and no history of a severe psychiatric disorder. In particular, the *Patient Health Questionnaire-9* (PHQ-9) was used to rule-out any presence of depression.

In the 3 subject groups, blood was taken on the first and last visit at the clinic and at different times according to studies (12 weeks for the FM study group, 8 weeks for the FM+MDD group and 8 weeks for the MDD group). The subjects in the FM and FM+MDD arms were randomized in a double-blind, placebo-controlled fashion. In contrast, the MDD study was an open trial with no placebo. For the FM subjects, quetiapine was progressively introduced, as

an add-on to previous analgesic medication, with a final flexible dose between 50 mg and 300 mg. For FM+MDD subjects, a final dose of either 150 mg or 300 mg of quetiapine was gradually instituted. For MDD group, treatments were heterogenous and included antidepressants like SSRIs, venlafaxine, mirtazapine or bupropion. For more information, please refer to published articles; for FM, Potvin et al. (2012), and for FM+MDD, McIntyre (2013).

Clinical assessments

In all 3 study groups, depressive and anxiety symptoms were evaluated with the *Hamilton Depression Rating Scale* (HAM-D) and the *Hamilton Anxiety Rating Scale* (HAM-A), respectively (Carrozzino et al., 2020; Obeid et al., 2023). The HAM-D and HAM-A were administered before and after pharmacological treatment in all 3 study groups (e.g., MDD, FM, and FM+MDD). FM symptoms were evaluated with the *Fibromyalgia Impact Questionnaire* (FIQ) (Lee et al., 2012). The FIQ was administered before and after treatment in the FM+MDD and FM groups.

PBMC isolation and qPCR

Blood samples were processed within 24 hours of being collected in EDTA tubes. PBMC were isolated by gradient centrifugation at 1850 g on Ficoll Paque (GE Healthcare). PBMC purity was determined with a cell counter (Coulter Ac T diff 2, Beckman Coulter). Cells were stored at -80°C in Trizol (Invitrogen) until RNA extraction. Aliquots of one to two micrograms of the RNA samples were for the qPCR. After DNase digestion (DNase I amplification grade, Invitrogen), inverse transcription was performed with an inverse transcriptase (iScript cDNA synthesis Kit, Biorad) during 5 minutes at 25°C, 30 minutes at 42°C and 5 minutes at 85°.

Complementary DNA (cDNA) was generated in the presence of different forward and reverse primers for the genes of interest: SERT and DAT, or primers for the housekeeping gene β 2-microglobulin (β 2). All primers were obtained from IDT, and their sequences are depicted in Table 1. The threshold cycle (CT) values obtained for SERT or DAT were subtracted by the corresponding CT values of β 2 to obtain the relative mRNA expression of SERT or DAT, respectively.

- Please insert Table 1 about here -

Table 1: Oligonucleotide of primer of SERT, DAT and β 2-microglobulin

Species	Sense	Antisense	Amplicon
SERT (NM_001045.6)	GTGGCCAAAGACGCAGGTC (1494-1512)	CTCATCCAGCACAGCCGTGATC (1664-1643)	171bp
DAT (NM_001044.5)	CTGCGAGGCGTCTGTTTGGATTG (1053-1075)	GTGGTGACAATCGCGTCCCTGTAG (1187-1164)	135bp
β 2.microglobulin (NM_004048.4)	CACGTCATCCAGCAGAGAATGG (122-143)	GATGCTGCTTACATGTCTCGATCC (398-375)	277bp

Statistical analyses

All analyses were done using R version 4.2.2 (R Core Team, 2022) using package *lmer* (Bates, 2015) for mixed-effect analysis. The statistical threshold for significance was set at $p < 0.05$. We used the $\Delta\Delta$ CT method (Livak & Schmittgen, 2001) to evaluate the relative mRNA expression of SERT (re-SERT) and DAT (re-DAT) contrasted to B2-microglobulin. That is, an increased value of $\Delta\Delta$ CT represented a reduced expression of the mRNA, and vice-versa. First, we tested for a mean difference on re-SERT between the control group and the clinical groups (FM, MDD, & FM+MDD) using an analysis of variance. Given that there were significant differences,

pairwise contrasts were performed between the groups using Tukey's adjustment on p-values. Second, for the FM and FM+MDD groups, we examined if there was a mean change difference on re-SERT for the subjects on placebo compared to those receiving quetiapine using a linear mixed-effect model with a random-effect on intercept. For the MDD group (taking various antidepressants), we also used a linear mixed-effect model. Using the same model, scales measuring symptoms (pain, depression, anxiety, and global mental health) were compared from pre- to post-treatment to verify if the symptoms improvements were greater in the quetiapine group as compared to the placebo group. Finally, in the case of the DAT mRNA expression, it could not be detected in several participants. DAT mRNA expression was therefore considered as a dichotomic variable (DAT detected versus non-detected), and logistic regression analyses were performed to examine potential between-group differences. Pairwise contrasts were performed between the groups using Tukey's adjustment on p-values.

Results

Clinical findings

Sociodemographic differences

At baseline, there were significant differences in age between groups (FM; N=55: 49.6 years \pm 10.3; FM+MDD; N=120: 50.7 years \pm 9.5; MDD; N=50: 44.6 years \pm 12.2; and controls; N=62: 38.0 years \pm 12.8; $p < 0.001$). The sex ratio was also significantly different between groups (FM: 100% of females; FM+MDD: 97.2% of females; MDD: 48.8% of females; and controls: 25.8 % of females; $p < 0.001$).

Pre- post-treatment effects

In the FM group, 25 subjects received quetiapine, while 61 subjects received quetiapine in the FM+MDD group. As illustrated in Supplementary Table 1, we observed a reduction in FM-related and depressive symptoms after treatment with quetiapine, relative to placebo, across the FM and FM+MDD groups (FIQ: $p = 0.002$; HAM-D: $p = 0.003$). There was a similar trend in the case of anxiety symptoms, which failed to achieve significance ($p = 0.08$). Regardless of drug status (quetiapine vs placebo), there was a significant effect of time on FM, depressive and anxiety symptoms across FM and FM+MDD groups (all $p < 0.001$). For more information, please refer to Potvin et al. (2012) and McIntyre et al. (2013). As illustrated in Supplementary Table 1 and Supplementary Figure 1, for MDD subjects, we observed significant improvements in depressive and anxiety symptoms after treatment (HAM-D: $p < 0.001$, HAM-A: $p < 0.001$).

Differences in SERT mRNA expression between groups, before treatment

We observed a minor reduction in the SERT mRNA expression in FM subjects relative to healthy subjects, but this potential difference failed to reach statistical significance ($p=0.061$) (Figure 1). There was a significant reduction of the SERT mRNA expression in the MDD group compared to controls ($p<0.001$) (Figure 1). This reduction had a magnitude of -2.249 ± 0.415 amplification cycles by PCR. Assuming doubling of the amplicon per amplification cycle, this result indicates that SERT gene expression is about 5-times less expressed in MDD subjects compared to healthy controls. We also observed a significant decrease of the SERT gene expression in the MDD group when contrasted to the two other subject groups: FM by a factor of -1.279 ± 0.380 cycles ($p<0.01$), and -1.768 ± 0.342 for FM+MDD ($n=117$) ($p<0.001$), respectively. This indicates that SERT is 2- and 3-times less expressed in MDD than in FM and FM+MDD, respectively. Finally, there was no difference noted between the FM+MDD group and controls ($p=0.514$) (Figure 1). Of note, these results remained significant after controlling for age differences.

Considering that there were significant differences in the sex ratio between groups, we performed secondary analyses restricted to female participants only. As in the primary analysis, differences were found between MDD subjects and controls ($p=0.0001$), as well as between MDD and FM subjects ($p=0.002$).

- Please insert Figure 1 about here -

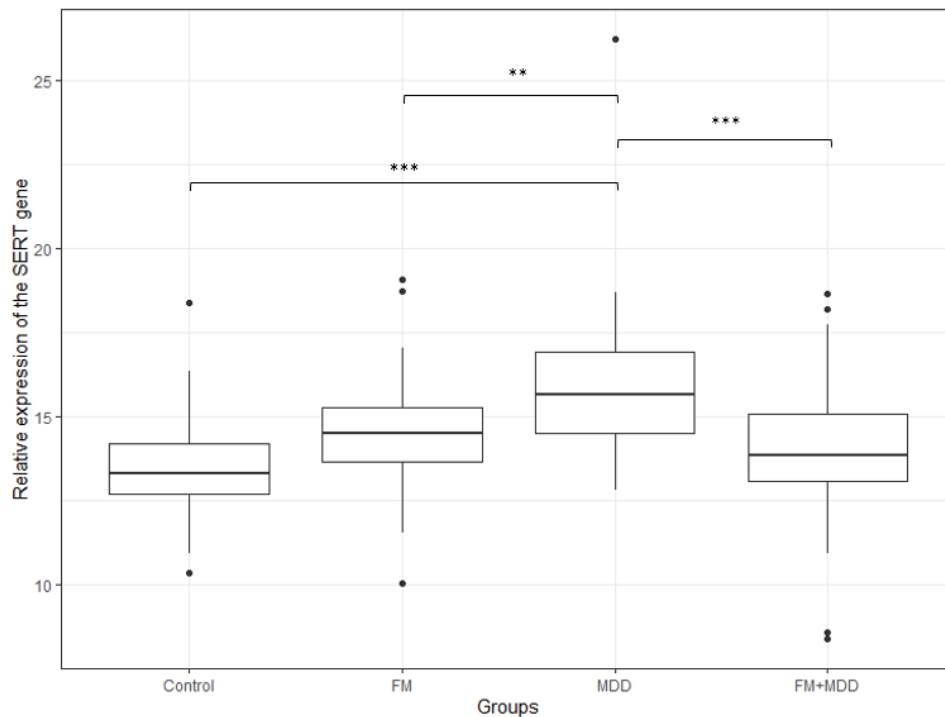


Figure 1: Boxplot of the relative expression of the SERT mRNA by groups at baseline. An increase of the relative expression of the CT of SERT represents that the mRNA is less expressed, and vice-versa. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$.**

Changes in SERT mRNA expression after treatment

In the FM group, SERT mRNA expression was analyzed in 20 subjects receiving placebo versus 18 receiving quetiapine after 12 weeks of treatment. In the FM+MDD group, SERT mRNA expression was analyzed in 43 subjects taking placebo and 51 taking quetiapine after 8 weeks of treatment. Across both groups, no significant difference was observed in the SERT mRNA expression between subjects taking placebo and those receiving quetiapine after treatment ($p > 0.05$) (Figure 2). Regardless of drug status (quetiapine vs placebo), there was a no effect of time on SERT mRNA expression across FM and FM+MDD groups ($p > 0.05$) Due to loss to

follow-up and missing blood samples, SERT mRNA expression was analyzed in only 16 MDD subjects after 8 weeks of treatment. The comparison of SERT mRNA expression of MDD subjects before and after treatment showed no significant difference after treatment ($p>0.05$; results not shown).

- Please insert Figure 2 about here -

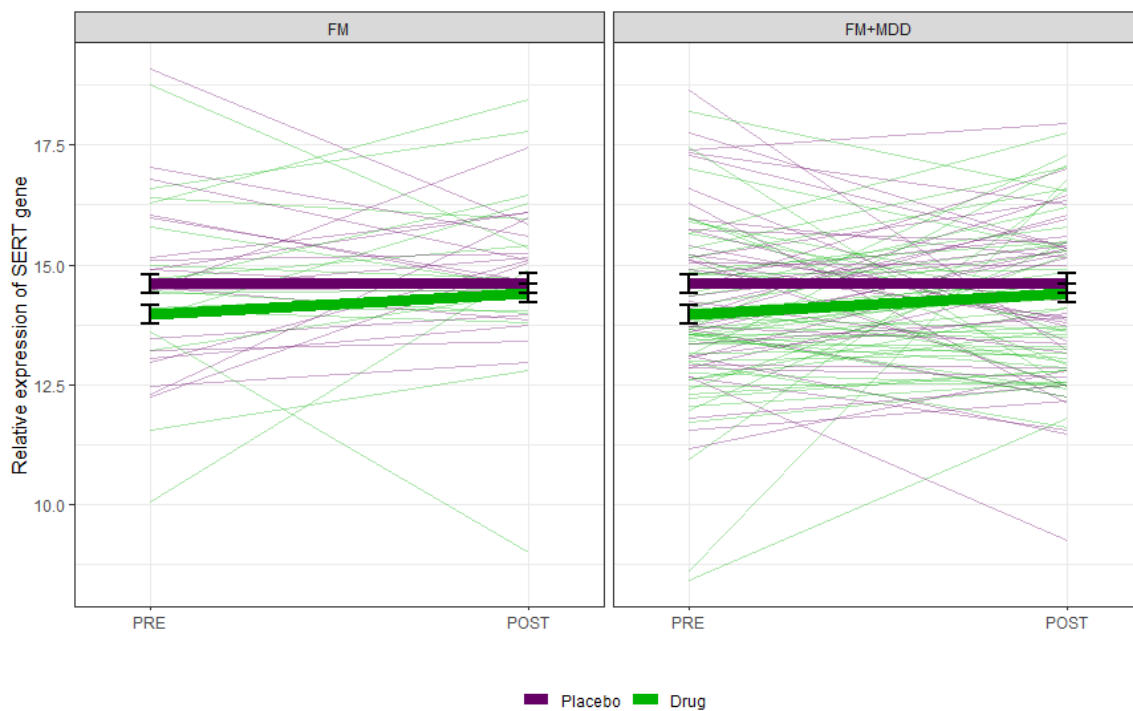


Figure 2: Changes in the relative expression of SERT mRNA from pre- to post-treatment.

Thin lines in the background represents individual changes and the solid thick lines represent the means from a linear mixed-effect model. Error bars represent one standard error (SE).

Differences in DAT mRNA expression

We used a categorical analysis to evaluate DAT mRNA expression. At baseline, DAT mRNA expression was detectable in 37.3% of controls; 55.6% of FM subjects; 62.5% of FM/MDD

subjects; and 69.0% of MDD subjects. DAT mRNA expression was more frequently detected in MDD subjects relative to controls ($p < 0.001$), and more frequently detected in FM+MDD subjects relative to controls ($p < 0.001$) (Figure 3). We observed that DAT mRNA expression was also more frequently detected in FM subjects compared to controls; however, this result was only marginally significant ($p = 0.047$) (Figure 3). Finally, there was a significant difference in the detection ratio between FM+MDD versus FM subjects ($p < 0.001$). Similar group differences were observed in DAT mRNA expression after drug treatment.

Considering that there were significant differences in sex ratio between groups, we performed secondary analyses restricted to female participants only. As in the primary analysis, differences were found between MDD subjects and controls ($p = 0.004$), between FM+MDD subjects and controls ($p = 0.001$), as well as between FM and FM+MDD subjects ($p = 0.001$).

- Please insert Figure 3 about here -

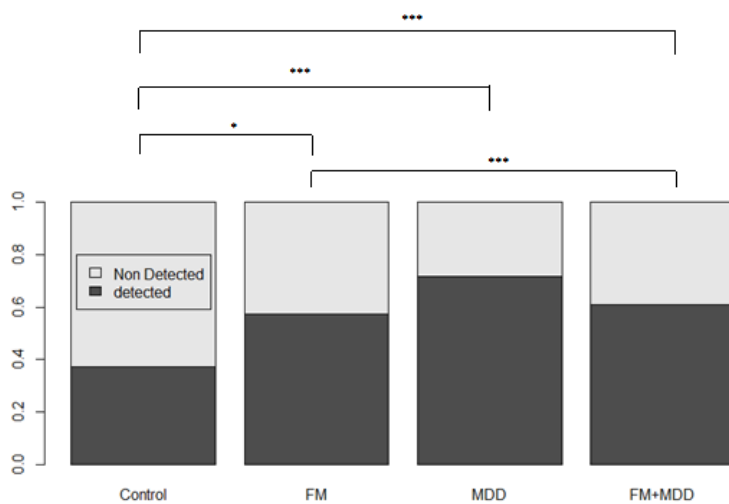


Figure 3: Boxplot of the relative expression of the DAT mRNA by groups at baseline using a categorical approach, using a cut-off of >50. The more frequently the mRNA is detected, the more it is considered expressed, ad vice-versa. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$.**

Discussion

The main aim of the present study was to measure SERT and DAT mRNA expression in PBMC in MDD, FM and subjects with both conditions. As a secondary objective, we sought to determine the impact of different antidepressants (mainly quetiapine) on SERT and DAT mRNA expression. Our results showed a decrease in SERT mRNA expression in MDD, but not in FM subjects. No change over time was detected after treatment, even though significant clinical improvements were observed in all 3 study groups for both depressive and/or FM symptoms. In comparison, the expression of the DAT mRNA was difficult to detect in several participants. Nevertheless, we were able to observe an increase in DAT mRNA expression in MDD, with smaller effects being observed in FM.

The main finding of the present study is the observation of a decrease in SERT mRNA expression in MDD. This result is consistent with the most accepted serotonergic model of depression and with the findings of previous studies in the field. Indeed, in most cases, these studies have shown that there is a decrease rather than an increase in SERT expression in MDD using blood lymphocytes as cell source, both at the mRNA (Lima et al., 2005) and protein level (Fazzino et al., 2009; Fazzino et al., 2008; Pena et al., 2005; Lima & Urbina, 2002; Urbina et al., 1999). This may seem counter-intuitive given that a decrease in SERT mRNA expression would normally result in an increased availability of 5-HT in the peripheral blood. However, in previous studies with similar results, the authors interpreted this finding by considering the alterations in SERT mRNA expression not as primary but rather as secondary to the abnormal amounts of 5-HT available in the peripheral blood in MDD (Pena et al., 2005). In this light, the decrease in SERT mRNA expression would represent a neuroimmune adaptive response to the presence of a reduced amount of 5-HT in the peripheral blood in MDD (Arreola et al., 2015).

Whereas previous studies in this field have been cross-sectional (Fazzino et al., 2009; Fazzino et al., 2008; Pena et al., 2005; Lima et al., 2005; Lima et al., 2002; Urbina et al., 1999), the present study stands out for its longitudinal design. Our results showed no change in SERT mRNA expression in any of the 3 study groups, including the MDD group, where the SERT mRNA expression was abnormal at baseline. In contrast to the other 2 groups, which were treated with a medication which had no affinity for SERT (e.g., quetiapine) (Tarazi et al., 2000), the MDD group was primarily treated with antidepressants (SSRIs & venlafaxine) known to inhibit the SERT. The fact that no normalization of SERT mRNA expression was observed in MDD subjects over time suggests that the reduction in SERT mRNA expression represents a stable rather than a transient effect. This interpretation is reinforced by the fact that no change in SERT mRNA expression was observed in the MDD group before or after treatment, even though the anxiety and depressive symptoms of these subjects improved over time.

Regarding the lack of association between SERT mRNA expression and FM, this result must be considered in light of previous studies evaluating the role of 5-HT in FM, which have produced conflicting results (Borchers et al., 2015). For instance, our research team previously studied blood 5-HT levels in FM and the serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) polymorphism and found no associations with FM in both cases (Paul-Savoie et al., 2011; Potvin et al., 2012). Serotonin does not produce simple effects on pain. Indeed, the preclinical literature has shown that brainstem 5-HT is involved in both pain inhibition and pain facilitation (Hao et al., 2023), because 5-HT produces different effects on pain depending on the receptors to which it binds. While 5-HT_{1A} receptor agonists produce pain relief, 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptor agonists promote pain (Liu et al., 2020). The SERT regulates the amount of 5-HT available in the synaptic cleft, but because 5-HT receptors have opposing effects on pain, the measurement

of SERT mRNA expression may lack the specificity required to demonstrate the involvement of 5-HT in the pathophysiology of chronic pain conditions such as FM.

Since the expression of the DAT mRNA was undetectable in many participants, even after 50 cycles of amplification in the qPCR reactions, the results on DAT mRNA expression must be interpreted cautiously. Nevertheless, our results indirectly suggest that the DAT mRNA expression is increased in MDD. One of the cardinal symptoms of MDD is anhedonia. In the past, it has been proposed that anhedonia might result from reduced dopamine release in the reward system (Wang et al., 2021). In support of this model, several animal studies have shown that administration of dopamine-D₂ receptor antagonists in the striatum attenuates the reinforcing effects of various psychoactive substances (Custodio et al., 2020). In humans, several functional neuroimaging studies have shown that striatal activity is reduced in MDD subjects when they anticipate or receive a reward (Zhang et al., 2018).

Despite some negative findings, genome wide association studies and meta-analyses have shown an association between MDD and certain dopamine-related gene variants (Zhang et al., 2023; Wray et al., 2018). Although results are heterogeneous, several PET studies have shown alterations in striatal DAT availability in MDD (Savitz et al., 2013). Finally, randomized controlled trials have shown that bupropion (a weak DAT inhibitor) and some D₂ receptor partial agonists (e.g., aripiprazole) are effective in treating MDD (Nasr et al., 2014). In theory, the increased DAT mRNA expression could result in reduced amounts of dopamine in the synaptic cleft, including in brain reward system, which could explain the symptoms of anhedonia experienced by subjects with MDD. However, in the current study, SERT mRNA expression was measured in PBMCs; thus, our results may not necessarily reflect changes occurring in the brain. As for the increased DAT mRNA expression found in FM, the result was barely

significant, suggesting that the observed effect is rather small. It must be considered that the role of dopamine in pain is complex and remains to be clarified (Serafini et al., 2020) and that the dopaminergic alterations that have been described in FM remain preliminary and need to be confirmed (Albrecht et al., 2016).

The current study has several strengths, namely the inclusion of a relatively large sample of subjects (total N=225) with MDD, FM and FM+MDD. Subjects in all 3 groups were assessed before and after antidepressant treatment. Finally, two out of the three groups were assessed in a randomized placebo-controlled manner. Despite these strengths, the study has some limitations that must be acknowledged. First, there were significant differences in age and sex ratio between groups. Considering that age and sex may influence the serotonergic system (Banerjee et al., 2013; Madsen et al., 2011), the between-group difference in socio-demographic variables may explain the reduced SERT mRNA expression that was observed in the MDD subjects relative to controls. This possibility seems unlikely however, since we performed sub-analyses controlling for the effect of age and sex, which showed that the decrease in SERT mRNA expression remained significant in MDD despite the addition of these covariates. Another limitation of the current study has to do with the fact that the FM and FM+MDD groups were not treated with the same antidepressant (e.g., quetiapine) as the MDD group, which received an assortment of antidepressants (including SSRIs). The fact that quetiapine has no known affinity for the SERT may explain the lack of change in the SERT mRNA expression during treatment in the FM and FM+MDD groups. However, the MDD subjects were treated with antidepressants having affinities for SERT, and no change in SERT mRNA expression was detected in this group. Finally, it must be acknowledged that SERT mRNA could only be

measured in 16 MDD subjects after the 8-week treatment. Thus, we may have statistical power to detect changes in SERT mRNA expression before and after antidepressant treatment.

Consistent with the serotonergic model of depression, the results of the present study showed a decrease in SERT mRNA expression and no effect of quetiapine on this outcome, suggesting that the increase in SERT mRNA expression represents a trait rather than a state effect. On the other hand, we did not observe any alteration of SERT mRNA expression in FM. In a preliminary manner, we also observed an increase in DAT mRNA expression in MDD (and possibly in FM), although this result is not robust, due to the difficulty of detecting DAT in many participants. Future investigations are required to measure the mRNA expression of several 5-HT and dopamine receptors, before and after the administration of different types of antidepressants, while paying attention to potential confounding effects of age and sex differences.

Acknowledgments

SP is holder of the Eli Lilly Canada on schizophrenia research. The authors thank Dr. Jacques Bernier for clinical evaluation of healthy controls. We also thank Ingrid Agbato, Nancy Zaour and Raouf Igué for expert technical help.

Sources of funding

The 3 trials were funded by AstraZeneca Pharmaceuticals.

Conflicts of interest

None to declare.

References

Abdoun M, Albert PR, Drobetsky E, Filep JG, Kouassi E. 5-HT1A-mediated promotion of mitogen-activated T and B cell survival and proliferation is associated with increased translocation of NF-kappaB to the nucleus. *Brain Behav Immun.* 2004;18(1):24-34. doi:10.1016/s0889-1591(03)00088-6 A

Albrecht DS, MacKie PJ, Kareken DA, et al. Differential dopamine function in fibromyalgia. *Brain Imaging Behav.* 2016;10(3):829-839. doi:10.1007/s11682-015-9459-4

Al-Nimer MSM, Mohammad TAM, Alsakeni RA. Serum levels of serotonin as a biomarker of newly diagnosed fibromyalgia in women: Its relation to the platelet indices. *J Res Med Sci.* 2018;23:71. Published 2018 Aug 23. doi:10.4103/jrms.JRMS_859_17

Banerjee S, Poddar MK. Platelet monoamine oxidase-A activity and aging: effect of carnosine. *J Physiol Sci.* 2013;63(4):279-285. doi:10.1007/s12576-013-0264-9

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S.. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 2015; 67(1), 1-48.

Bazzichi L, Giannaccini G, Betti L, et al. Alteration of serotonin transporter density and activity in fibromyalgia. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(4):R99. doi:10.1186/ar1982

Bleys D, Luyten P, Soenens B, Claes S. Gene-environment interactions between stress and 5-HTTLPR in depression: A meta-analytic update. *J Affect Disord.* 2018;226:339-345. doi:10.1016/j.jad.2017.09.

Borchers AT, Gershwin ME. Fibromyalgia: A Critical and Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2015;49(2):100-151. doi:10.1007/s12016-015-8509-4

Border R, Johnson EC, Evans LM, et al. No Support for Historical Candidate Gene or Candidate Gene-by-Interaction Hypotheses for Major Depression Across Multiple Large

- Samples. *Am J Psychiatry*. 2019;176(5):376-387. doi:10.1176/appi.ajp.2018.18070881
- Carrozzino D, Patierno C, Fava GA, Guidi J. The Hamilton Rating Scales for Depression: A Critical Review of Clinimetric Properties of Different Versions. *Psychother Psychosom*. 2020;89(3):133-150. doi:10.1159/000506879
- Custodio RJP, Sayson LV, Botanas CJ, et al. Two newly-emerging substituted phenethylamines MAL and BOD induce differential psychopharmacological effects in rodents. *J Psychopharmacol*. 2020;34(9):1056-1067. doi:10.1177/0269881120936458
- Ellerbrock I, Sandström A, Tour J, et al. Serotonergic gene-to-gene interaction is associated with mood and GABA concentrations but not with pain-related cerebral processing in fibromyalgia subjects and healthy controls. *Mol Brain*. 2021;14(1):81. Published 2021 May 12. doi:10.1186/s13041-021-00789-4
- Fazzino F, Montes C, Urbina M, Carreira I, Lima L. Serotonin transporter is differentially localized in subpopulations of lymphocytes of major depression patients. Effect of fluoxetine on proliferation. *J Neuroimmunol*. 2008;196(1-2):173-180. doi:10.1016/j.jneuroim.2008.03.012
- Fazzino F, Urbina M, Cedeño N, Lima L. Fluoxetine treatment to rats modifies serotonin transporter and cAMP in lymphocytes, CD4+ and CD8+ subpopulations and interleukins 2 and 4. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(4):463-467. doi:10.1016/j.intimp.2009.01.011
- Ferreira GE, Abdel-Shaheed C, Underwood M, et al. Efficacy, safety, and tolerability of antidepressants for pain in adults: overview of systematic reviews. *BMJ*. 2023;380:e072415. Published 2023 Feb 1. doi:10.1136/bmj-2022-072415
- Fietta P, Fietta P, Manganelli P. Fibromyalgia and psychiatric disorders. *Acta Biomed*. 2007;78(2):88-95.

- Gackière F, Vinay L. Serotonergic modulation of post-synaptic inhibition and locomotor alternating pattern in the spinal cord. *Front Neural Circuits*. 2014;8:102. Published 2014 Aug 28. doi:10.3389/fncir.2014.00102
- Galvez-Sánchez CM, Reyes Del Paso GA. Diagnostic Criteria for Fibromyalgia: Critical Review and Future Perspectives. *J Clin Med*. 2020;9(4):1219. Published 2020 Apr 23. doi:10.3390/jcm9041219
- Gershon MD, Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*. 2007;132(1):397-414. doi:10.1053/j.gastro.2006.11.002
- Gryglewski G, Lanzenberger R, Kranz GS, Cumming P. Meta-analysis of molecular imaging of serotonin transporters in major depression. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(7):1096-1103. doi:10.1038/jcbfm.2014.82
- Hao S, Shi W, Liu W, Chen QY, Zhuo M. Multiple modulatory roles of serotonin in chronic pain and injury-related anxiety. *Front Synaptic Neurosci*. 2023;15:1122381. Published 2023 Apr 18. doi:10.3389/fnsyn.2023.1122381
- Heddini U, Bohm-Starke N, Grönbladh A, Nyberg F, Nilsson KW, Johannesson U. Serotonin receptor gene (5HT-2A) polymorphism is associated with provoked vestibulodynia and comorbid symptoms of pain. *J Sex Med*. 2014;11(12):3064-3071. doi:10.1111/jsm.12685
- Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, et al. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs*. 2006;20(5):389-409. doi:10.2165/00023210-200620050-00004
- Houwing DJ, Buwalda B, van der Zee EA, de Boer SF, Olivier JDA. The Serotonin Transporter

and Early Life Stress: Translational Perspectives. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:117.

Published 2017 Apr 26. doi:10.3389/fncel.2017.00117

Kambeitz JP, Howes OD. The serotonin transporter in depression: Meta-analysis of in vivo and post mortem findings and implications for understanding and treating depression. *J Affect Disord.* 2015;186:358-366. doi:10.1016/j.jad.2015.07.034

Kushnir-Sukhov NM, Brown JM, Wu Y, Kirshenbaum A, Metcalfe DD. Human mast cells are capable of serotonin synthesis and release. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(2):498-499. doi:10.1016/j.jaci.2006.09.003

Lee M. Clinimetrics: The Revised Fibromyalgia Impact Questionnaire. *J Physiother.* 2021;67(3):220-221. doi:10.1016/j.jphys.2020.09.002

León-Ponte M, Ahern GP, O'Connell PJ. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT₇ receptor. *Blood.* 2007;109(8):3139-3146. doi:10.1182/blood-2006-10-052787

Lima L, Urbina M. Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cell Mol Neurobiol.* 2002;22(5-6):797-804. doi:10.1023/a:1021869310702

Lima L, Mata S, Urbina M. Allelic isoforms and decrease in serotonin transporter mRNA in lymphocytes of patients with major depression. *Neuroimmunomodulation.* 2005;12(5):299-306. doi:10.1159/000087108

Liu QQ, Yao XX, Gao SH, et al. Role of 5-HT receptors in neuropathic pain: potential therapeutic implications. *Pharmacol Res.* 2020;159:104949. doi:10.1016/j.phrs.2020.104949

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative

- PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-408.
doi:10.1006/meth.2001.1262
- Løge-Hagen JS, Sæle A, Juhl C, Bech P, Stenager E, Mellentin AI. Prevalence of depressive disorder among patients with fibromyalgia: Systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord*. 2019;245:1098-1105. doi:10.1016/j.jad.2018.12.001
- Malhi GS, Bell E, Bassett D, et al. The 2020 Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists clinical practice guidelines for mood disorders. *Aust N Z J Psychiatry*. 2021;55(1):7-117. doi:10.1177/0004867420979353
- Marques AP, Santo ASDE, Berssaneti AA, Matsutani LA, Yuan SLK. Prevalence of fibromyalgia: literature review update. *Rev Bras Reumatol Engl Ed*. 2017;57(4):356-363. doi:10.1016/j.rbre.2017.01.005
- Madsen K, Haahr MT, Marner L, et al. Age and sex effects on 5-HT(4) receptors in the human brain: a [(11)C]SB207145 PET study. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011;31(6):1475-1481. doi:10.1038/jcbfm.2011.11
- McIntyre A, Paisley D, Kouassi E, Gendron A. Quetiapine fumarate extended-release for the treatment of major depression with comorbid fibromyalgia syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(2):451-461. doi:10.1002/art.38228
- Meyer JH. Imaging the serotonin transporter during major depressive disorder and antidepressant treatment. *J Psychiatry Neurosci*. 2007;32(2):86-102.
- Moncrieff J, Cooper RE, Stockmann T, Amendola S, Hengartner MP, Horowitz MA. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence [published online ahead of print, 2022 Jul 20]. *Mol Psychiatry*. 2022;10.1038/s41380-022-01661-

0. doi:10.1038/s41380-022-01661-0

Nakamura K, Sato T, Ohashi A, Tsurui H, Hasegawa H. Role of a serotonin precursor in development of gut microvilli. *Am J Pathol.* 2008;172(2):333-344. doi:10.2353/ajpath.2008.070358

Nasr S, Wendt B, Popli A, Crayton J. Comparing outcomes of adjunctive treatment in depression: aripiprazole versus bupropion. *J Affect Disord.* 2014;162:50-54. doi:10.1016/j.jad.2014.03.019

Nikolaus S, Müller HW, Hautzel H. Different patterns of 5-HT receptor and transporter dysfunction in neuropsychiatric disorders--a comparative analysis of in vivo imaging findings. *Rev Neurosci.* 2016;27(1):27-59. doi:10.1515/revneuro-2015-0014

Obeid S, Azzi V, Hallit S. Validation and psychometric properties of the Arabic version of Hamilton Depression Rating Scale 7 items (HAM-D-7) among non-clinical and clinical samples of Lebanese adults. *PLoS One.* 2023;18(5):e0285665. Published 2023 May 18. doi:10.1371/journal.pone.0285665

O'Connell PJ, Wang X, Leon-Ponte M, Griffiths C, Pingle SC, Ahern GP. A novel form of immune signaling revealed by transmission of the inflammatory mediator serotonin between dendritic cells and T cells. *Blood.* 2006;107(3):1010-1017. doi:10.1182/blood-2005-07-2903

Pacheco R, Prado CE, Barrientos MJ, Bernales S. Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. *J Neuroimmunol.* 2009;216(1-2):8-19. doi:10.1016/j.jneuroim.2009.07.018

Pae CU, Sohi MS, Seo HJ, et al. Quetiapine XR: current status for the treatment of major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34(7):1165-

1173. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.03.023

Paul-Savoie E, Potvin S, Daigle K, et al. A deficit in peripheral serotonin levels in major depressive disorder but not in chronic widespread pain. *Clin J Pain*. 2011;27(6):529-534. doi:10.1097/AJP.0b013e31820dfede

Peña S, Baccichet E, Urbina M, Carreira I, Lima L. Effect of mirtazapine treatment on serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of major depression patients. *Int Immunopharmacol*. 2005;5(6):1069-1076. doi:10.1016/j.intimp.2005.02.005

Potvin S, Morin M, Cloutier C, Gendron A, Bissonnette A, Marchand S. Add-on treatment of quetiapine for fibromyalgia: a pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled 12-week trial. *J Clin Psychopharmacol*. 2012;32(5):684-687. doi:10.1097/JCP.0b013e318267b8ca

Potvin S, Marchand S. Pain facilitation and pain inhibition during conditioned pain modulation in fibromyalgia and in healthy controls. *Pain*. 2016;157(8):1704-1710. doi:10.1097/j.pain.0000000000000573

Prieto E, Micó JA, Meana JJ, Majadas S. Neurobiological bases of quetiapine antidepressant effect in the bipolar disorder. *Actas Esp Psiquiatr*. 2010;38(1):22-32.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing*. 2022.

Serafini RA, Pryce KD, Zachariou V. The Mesolimbic Dopamine System in Chronic Pain and Associated Affective Comorbidities. *Biol Psychiatry*. 2020;87(1):64-73. doi:10.1016/j.biopsych.2019.10.018

Savitz JB, Drevets WC. Neuroreceptor imaging in depression. *Neurobiol Dis*. 2013;52:49-65. doi:10.1016/j.nbd.2012.06.001

- Taniguchi W, Nakatsuka T, Miyazaki N, et al. In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain*. 2011;152(1):95-105. doi:10.1016/j.pain.2010.09.034
- Tanwar S, Mattoo B, Kumar U, Dada R, Bhatia R. Does human serotonin-1A receptor polymorphism (rs6295) code for pain and associated symptoms in fibromyalgia syndrome?. *Reumatismo*. 2021;73(1):24-31. Published 2021 Apr 19. doi:10.4081/reumatismo.2021.1312
- Tarazi FI, Zhang K, Baldessarini RJ. Olanzapine, quetiapine, and risperidone: long-term effects on monoamine transporters in rat forebrain. *Neurosci Lett*. 2000;287(2):81-84. doi:10.1016/s0304-3940(00)01130-7
- Tsao CW, Lin YS, Chen CC, Bai CH, Wu SR. Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(5):899-905. doi:10.1016/j.pnpbp.2006.01.029
- Tour J, Sandström A, Kadetoff D, Schalling M, Kosek E. The OPRM1 gene and interactions with the 5-HT1a gene regulate conditioned pain modulation in fibromyalgia patients and healthy controls. *PLoS One*. 2022;17(11):e0277427. Published 2022 Nov 7. doi:10.1371/journal.pone.0277427
- Urbina M, Pineda S, Piñango L, Carreira I, Lima L. [3H]Paroxetine binding to human peripheral lymphocyte membranes of patients with major depression before and after treatment with fluoxetine. *Int J Immunopharmacol*. 1999;21(10):631-646. doi:10.1016/s0192-0561(99)00035-1
- Wang S, Leri F, Rizvi SJ. Anhedonia as a central factor in depression: Neural mechanisms revealed from preclinical to clinical evidence. *Prog Neuropsychopharmacol Biol*

Psychiatry. 2021;110:110289. doi:10.1016/j.pnpbp.2021.110289

World Health Organization. Depressive disorder (depression). World Health Organization.

March 31th 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>

Wood PB, Patterson JC 2nd, Sunderland JJ, Tainter KH, Glabus MF, Lilien DL. Reduced presynaptic dopamine activity in fibromyalgia syndrome demonstrated with positron emission tomography: a pilot study. *J Pain*. 2007;8(1):51-58. doi:10.1016/j.jpain.2006.05.014

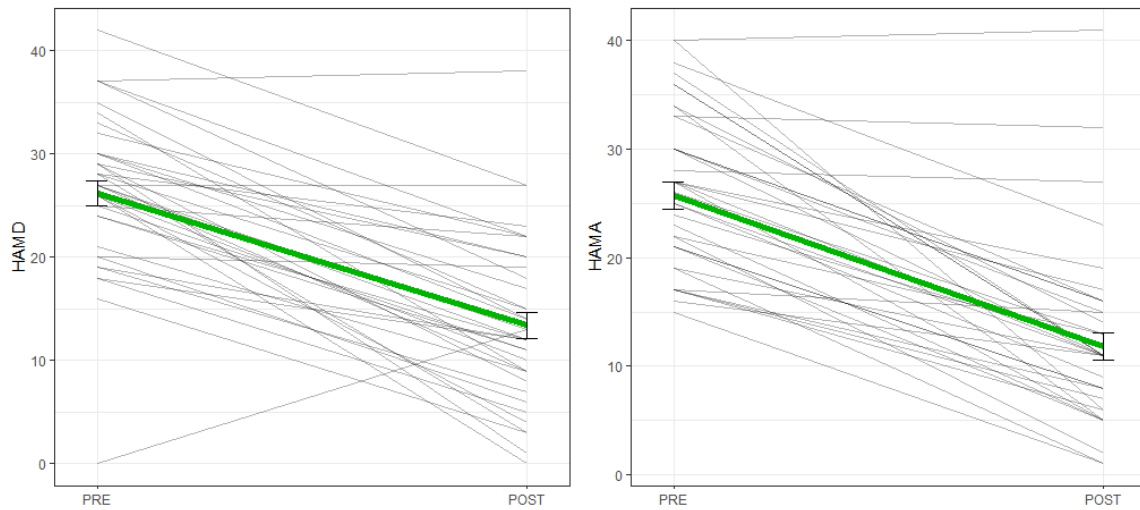
Wray NR, Ripke S, Mattheisen M, et al. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat Genet*. 2018;50(5):668-681. doi:10.1038/s41588-018-0090-3

Zhang FF, Peng W, Sweeney JA, Jia ZY, Gong QY. Brain structure alterations in depression: Psychoradiological evidence. *CNS Neurosci Ther*. 2018;24(11):994-1003. doi:10.1111/cns.12835

Zhang X, Han Y, Liu X, Chen J, Yuan Z, Wang Y. Assessment of genetic variants in D2 dopamine receptor (DRD2) gene as risk factors for post-traumatic stress disorder (PTSD) and major depressive disorder (MDD): A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord*. 2023;328:312-323. doi:10.1016/j.jad.2023.02.001

Supplementary Table 1 : Mean (sd) of the symptom scale pre and post by group for the placebo and drug group. The measured symptoms were taken from Fibromyalgia Impact Questionnaire Total (FIQ-Total), the Hamilton Depression (HAM-D), and Anxiety (HAM-A).

		Placebo		Quetiapine	
		Pre	Post	Pre	Post
FIQ-Total	FM	63.8 (13.5)	61.3 (15.3)	59.7 (12.4)	54.5 (16.6)
	FM+MDD	75.6 (13.7)	65.2 (16.5)	77.2 (14.0)	60.8 (22.0)
HAM-D	FM	12.6 (3.8)	12.2 (3.6)	11.1 (4.6)	9.1 (5.5)
	MDD	-	-	26.2 (7.5)	13.6 (8.1)
	FM+MDD	24.6 (1.5)	15.9 (4.8)	25.1 (2.3)	12.3 (5.6)
HAM-A	FM	11.5 (3.9)	10.3 (3.4)	10.3 (4.7)	8.8 (4.4)
	MDD	-	-	25.7 (7.6)	12.2 (8.2)
	FM+MDD	23.5 (4.6)	14.7 (5.7)	24.0 (4.5)	11.9 (6.4)



Supplementary Figure 1: Changes in clinical symptoms from pre- to post-treatment for the MDD group. Thin lines in the background represent individual changes and the solid thick lines represent the means from a linear mixed-effect model. Error bars represent one standard error (SE). The measured symptoms were taken from the Hamilton Depression (HAM-D) and Anxiety (HAM-A).

Chapitre III : Discussion

Notre objectif était d'étudier l'expression de l'ARNm du SERT et du DAT dans les PBMC de patients MDD, FM et FM/MDD, et connaître l'effet des différents traitements (principalement la quétiapine) sur l'expression de ces deux transporteurs pour ces mêmes trois groupes.

Expression de l'ARNm du SERT et du DAT dans les PBMC chez les patients MDD, FM et FM/MDD

SERT

Dans un premier temps, les résultats avec le SERT semblent aller partiellement dans la direction que nous envisagions. De fait, son expression diminue de manière significative uniquement chez les patients MDD par rapport aux VS, et non chez les patients FM et les patients FM/MDD (voir Figure 1). Ces résultats significatifs pour la MDD corroborent ceux de six études antérieures (Fazzino *et al.*, 2008; Fazzino *et al.*, 2009; Lima et Urbina, 2002; Peña *et al.*, 2005; Urbina *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2005). En revanche, deux études observent une hausse du SERT (Tsao *et al.*, 2006; Iga *et al.*, 2016) (voir Tableau II). En outre, il existe des différences et des similitudes entre leurs conditions de recherches et celles de la nôtre. D'une part, la majorité de ces études ont été réalisées avec des dosages de liaison d'ISRS (comme la ³H-Paroxetine) afin de quantifier les niveaux de protéine ((Fazzino *et al.*, 2008; Lima et Urbina, 2002; Pena *et al.*, 2005; Urbina *et al.*, 1999). Ces quatre dernières études observent une baisse du SERT dans les lymphocytes. D'autre part, il existe une seule étude ayant mesuré l'ARNm dans les lymphocytes humains et qui observe également une baisse du SERT chez les patients MDD (Lima *et al.*, 2005). Malgré qu'il utilise le modèle animal de rat pour la MDD, le groupe de Fazzino *et al.* (2008) mesure

aussi une baisse de l'ARNm dans les lymphocytes par rapport aux rats non malades. À l'opposé, deux groupes semblent mesurer des niveaux à la hausse du SERT en MDD. Premièrement, l'étude de Iga *et al.* (2016) mesure les niveaux d'ARNm en MDD, mais c'est la seule étude parmi la liste exhaustive précédente qui utilise le sang total. Cette différence est majeure puisque les sous-populations de leucocytes (monocytes, lymphocytes, polymorphonucléaires) et les plaquettes ne métabolisent pas la 5-HT ni n'expriment le SERT pareillement. De fait, le SERT est exprimé par les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les mastocytes, les lymphocytes B et T, les plaquettes et les cellules endothéliales (Herr *et al.*, 2017). De plus, on sait que la 5-HT produite par les intestins est emmagasinée dans les plaquettes. Étant donné que les niveaux de 5-HT sériques sont un reflet de la production entérique, qui représente 95 % de la 5-HT du corps, le SERT à la surface des plaquettes joue un rôle majeur dans cette fonction de stockage (Terry et Margolis, 2017). Ainsi, les niveaux du SERT périphériques sont nécessairement influencés de manière importante par la présence de plaquettes dans les échantillons de sang total utilisés par Iga *et al.* (2017). Nous croyons que cette différence produite par l'utilisation de sang total plutôt que les PBMC, dont font partie les lymphocytes, explique cette différence d'expression du SERT à la hausse dans le sang total. Deuxièmement, l'étude de Tsao *et al.* (2006) observe une hausse des niveaux d'ARNm du SERT chez les patients MDD. Considérant que nous avons des conditions expérimentales similaires, nous avons du mal à expliquer cette divergence. Notons cependant, une différence au niveau du nombre de patients MDD (n=22) et de VS (n=20) recrutés dans leur étude par rapport à la nôtre (MDD : n=50; VS: n=62). Une autre divergence se situe dans leurs critères d'inclusion qui ne semblent pas spécifier si les patients utilisent des antidépresseurs ou pas. Cet élément est important puisqu'il a été suggéré que certains antidépresseurs, comme les ISRS (Urbina *et al.*,

1999) et les antidépresseurs tricycliques (Peña *et al.*, 2005), influencent à la hausse l'expression du SERT sur les lymphocytes.

En FM, on observe une tendance à la baisse de l'expression de l'ARNm du SERT chez les patients FM (n=51, p=0,06) comparés aux VS (n=62), mais cette différence n'est pas statistiquement significative. De fait, la seule littérature disponible sur le SERT périphérique se base sur le modèle des plaquettes, une source importante du SERT tel que décrit auparavant. La mesure de la protéine SERT par dosage de liaison de l'ISRS ³H-Paroxetine est abaissée à la surface des plaquettes des patients souffrant de FM (Bazzichi *et al.*, 2006). Même si la baisse de l'ARNm du SERT en FM n'est pas significative, nous sommes les premiers à avoir étudié le modèle des PBMC pour la mesure de l'expression du SERT en FM.

Par ailleurs, en FM/MDD, il n'y a pas de différence significative de l'expression de l'ARNm du SERT entre les patients FM/MDD (n=120; p=0,51) et les VS (n=62). En faisant des comparaisons entre les quatre groupes (MDD, FM, FM/MDD et VS), nous observons des résultats intéressants (voir Figure 1). D'abord, lorsque l'expression de l'ARNm du SERT en MDD est comparée au groupe FM, on observe qu'elle diminue en MDD de manière significative (p=0,005). De plus, lorsqu'on compare l'expression de l'ARNm du SERT en MDD à ceux du groupe FM/MDD, elle diminue aussi en MDD de manière significative (p<0,0001). Ainsi, ces rapports statistiques viennent confirmer que l'ARNm du SERT des patients MDD est moins détecté par rapport aux trois autres groupes (FM, FM/MDD et VS). Nous en tirons la conclusion suivante : la présence de FM chez les patients avec ou sans MDD normalise l'expression du SERT au niveau de celui des VS.

En prenant en compte l'existence d'états inflammatoires en MDD (Loftis *et al.*, 2010), les manifestations immunologiques inflammatoires périphériques (Jaiswal *et al.*, 2015) semblent avoir un impact direct sur les dérèglements des niveaux de 5-HT, autant en périphérie qu'au niveau central. De fait, dans les états inflammatoires où la BBB est compromise, les cytokines inflammatoires ont la capacité d'inhiber la production de 5-HT au niveau central en activant l'enzyme indoléamine 2,3 dioxygénase (IDO). Cette dernière transforme au niveau du cerveau les réserves de tryptophane essentielles à la production de 5-HT, en des métabolites neurotoxiques (Kim *et al.*, 2012). Ainsi, par ce mécanisme, on observerait une baisse de 5-HT responsable des symptômes de dépression. Bien que la littérature à jour n'affiche pas de consensus sur la question des niveaux sanguins de 5-HT en MDD, nous interprétons la baisse du SERT en MDD dans nos résultats par une explication physiopathologique. De fait, en MDD, la baisse des niveaux du SERT à la surface des PBMC pourrait être une réponse secondaire adaptative (Arreola *et al.*, 2015) au déclin de l'activité sérotoninergique périphérique (Peña *et al.*, 2005), le SERT jouant alors un rôle essentiel de régulation négative de la 5-HT.

La recherche pour comprendre les mécanismes immunologiques présents en FM porte à croire qu'il existe un rôle inflammatoire de la 5-HT (Metyas *et al.*, 2015) semblable à ce qu'on observe en MDD. Cependant, le lien entre la douleur et la 5-HT est complexe vu le rôle dichotomique de la 5-HT dans les voies soit nociceptives ou inhibitrices de la douleur (Hao *et al.*, 2023). Par exemple, les récepteurs 5-HT_{1A} couplés à une protéine Gi, réduisent la douleur en hyperpolarisant les membranes, diminuant ainsi l'activité cellulaire neurologique ou immunitaire. Tandis que les récepteurs 5-HT_{2A} couplés à une protéine Gs et 5-HT₃ ionique dépolarisent les membranes augmentant ainsi l'activité cellulaire ou immunitaire (Liu *et al.*, 2020). De plus, comme pour la MDD, il a été proposé que la FM fait varier les niveaux sériques

de 5-HT, sans qu'on soit en mesure de déterminer si c'est à la hausse ou à la baisse. La majorité des auteurs suggèrent une baisse de 5-HT en périphérie (Arreola *et al.*, 2015), mais cela reste à être davantage démontré. Rappelons que nous n'avons pas détecté d'altération dans l'expression du SERT dans les PBMC en FM. Ces résultats soulignent la complexité de la neurotransmission sérotoninergique en FM. Le groupe de Bazzichi *et al.* (2006) a proposé que le SERT sur les plaquettes contribue à la pathogenèse de la FM. Bien que nous n'ayons pas mesuré une tendance à la baisse du SERT, il est impossible de tirer les mêmes conclusions avec les PBMC.

En somme, pour la FM, nos résultats affichent une tendance qui demeure à être confirmée. C'est uniquement dans la MDD que nos résultats sont significatifs sur l'ARNm du SERT dans les PBMC. Nous croyons qu'en se basant sur les études antérieures significatives, il y a un potentiel à utiliser l'ARNm du SERT dans les PBMC en MDD comme biomarqueur périphérique.

DAT

Dans un deuxième temps, l'analyse du DAT dans les PBMC s'est faite de manière qualitative. Effectivement, l'ARNm du DAT est moins souvent détectable dans les PBMC contrairement au SERT, ce dernier étant détecté dans la majorité des échantillons. Ainsi, nous avons présenté nos résultats d'une toute autre façon pour le DAT.

L'ARNm du DAT dans les PBMC est moins souvent détecté dans les VS (37,3 %; n=62) que dans les trois groupes de patients : en MDD 69,0 % (n=50) largement significatif ($p < 0,001$), en FM 55,6 % (n=51) à peine significatif ($p < 0,05$) et en FM/MDD 62,5% (n=120) amplement significatif ($p < 0,001$) (voir Figure 3).

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a dévoilé de tels résultats au niveau des PBMC (voir Tableau II). Nous observons plusieurs résultats significatifs, mais nous restons prudents concernant le sens de leur interprétation vu que la méthode diverge de celle utilisée pour le SERT qui est quantitative et généralement utilisée dans la littérature scientifique. Néanmoins, le plus haut taux de détection de l'ARNm du DAT dans ces trois groupes de patients peut suggérer indirectement qu'il existe un accroissement de l'expression du DAT en MDD, FM et FM/MDD.

Cette hausse de l'expression de l'ARNm du DAT en périphérie est difficile à corrélérer avec ce qui a été découvert dans le cerveau dans la MDD, puisque les études observent des résultats divergents (Sarchiapone *et al.*, 2006; Camardese *et al.*, 2014). Ces résultats sont aussi différents de ceux que nous envisagions dans notre hypothèse, c'est-à-dire, une baisse de l'expression de l'ARNm du DAT dans les PBMC.

Rappelons, d'une part, qu'il a été proposé comme hypothèse qu'en MDD, certains symptômes comme l'anhédonie, pourraient être le résultat d'une baisse de la neurotransmission dopaminergique du système de récompense (Wang *et al.*, 2021). Cette baisse de la DA entraînerait un mécanisme de compensation par la diminution de l'expression du DAT (Nikolaus *et al.*, 2009).

D'autre part, pour la FM, une baisse de DA a été rapportée dans le SNC (Wood, 2008) et au niveau du SNP (Stahl, 2009), ce qui expliquerait les symptômes de douleur retrouvés dans la FM (Wood, Holman *et al.*, 2007). De plus, la DA serait importante pour moduler la douleur dans le SNC (Wood, Schweinhardt *et al.*, 2007) et le SNP (Taniguchi *et al.*, 2010). Par ailleurs, une seule étude a observé une diminution du DAT dans la FM au niveau du cortex-préfrontal

(Stahl, 2008), alors on peut supposer qu'il existe un mécanisme de compensation similaire à la MDD. Une autre étude a fait le lien entre la présence d'une hyperactivité dans certains polymorphismes du DAT et la sensibilité augmentée à la douleur (Treister *et al.*, 2009).

En sachant que nous sommes les premiers à étudier le DAT en périphérie dans le contexte de ces deux maladies, notre seul modèle de comparaison est celui des études sur la neurochimie du DAT au niveau du SNC en FM et en MDD. Serait-il alors réaliste d'envisager que la hausse du DAT en périphérie dévoile un mécanisme physiopathologique tout à fait différent au niveau des PBMC ? Nous croyons que c'est une possibilité considérant le rôle immunitaire de la DA. En effet, tel que mentionné auparavant, la DA est omniprésente dans les réactions immunitaires et elle joue un rôle inflammatoire important dans plusieurs maladies neuropsychiatriques (Channer *et al.*, 2023) : schizophrénie, dépression, maladie bipolaire, anxiété. De plus, plusieurs pistes laissent croire qu'il existe un état neuroinflammatoire en FM (Kaltsas *et al.*, 2020). Comme pour la 5-HT, le lien immunologique entre la DA périphérique et le SNC est un sujet d'actualité (Channer *et al.*, 2023). Il existe des canaux de communication très complexes entre les différentes régions du SNC et du SNP avec les cellules immunitaires, telles que les PBMC. Cette complexité rend d'autant plus difficile de considérer qu'il existe des rôles parallèles simples de la DA entre le cerveau et le système immunitaire. Une hypothèse mise de l'avant se base sur la perméabilité de la BBB, observée dans un contexte inflammatoire comme en MDD ou en FM. La BBB peut devenir pathologiquement perméable à l'influence des cellules immunitaires telles que les lymphocytes T (Owens *et al.*, 1998).

Notre hypothèse est que la présence augmentée du DAT à la surface des PBMC circulants à travers la BBB, influence négativement la neurotransmission de DA dans ces maladies. Un tel mécanisme ainsi pourrait expliquer partiellement l'hypothèse dopaminergique.

Toutefois, cette hypothèse peut s'avérer difficile à être généralisée aux autres maladies neuroinflammatoires. Effectivement, le DAT semble diminuer à la surface des lymphocytes dans la schizophrénie, dans la maladie de Parkinson, dans l'atrophie multisystémique et dans la sclérose latérale amyotrophique (Buttarelli *et al.*, 2011). Cependant, ces études ont toutes été réalisées par immunocytochimie ou par dosage de liaison (« receptor binding assay ») du DAT, c'est-à-dire, par détection des niveaux de la protéine. Ces méthodes diffèrent de la nôtre faisant appel à la détection de l'ARNm par PCRq.

En résumé, ces résultats nous laissent croire que l'on pourrait utiliser le taux de détection de l'ARNm par PCRq du DAT des PBMC comme biomarqueur de la MDD et de la FM/MDD, et dans un intervalle de confiance moins grand, dans la FM. Néanmoins, nous émettons une réserve sur la validité d'un tel outil qualitatif.

Tableau II. Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature au sujet du DAT et du SERT en FM, en MDD et en comorbidité FM/MDD soit au SNC ou en périphérie

	SNC			Périphérie		
<i>FM</i>	↓ DAT	Protéine	Stahl (2008)	↑ DAT	ARNm	Villanueva et al. (2023)
	↑ SERT (rats)	Protéine	Murai et al. (2015)	↓ SERT ↔ SERT	Protéine ARNm	Bazzichi et al. (2006) Villanueva et al. (2023)
<i>MDD</i>	↓ DAT	Protéine	Sarchiapone et al. (2006)	↑ DAT	ARNm	Villanueva et al. (2023)
	↑ DAT	Protéine	Camardese et al. (2014)			
	↑ SERT ↓ SERT	Protéine Protéine	Meyer et al. (2007) Smith et al. (2021) Yeh et al. (2015)	↑ SERT ↓ SERT	ARNm ARNm Protéine Protéine Protéine ARNm Protéine Protéine ARNm	Tsao et al. (2006) Iga et al. (2016) Fazzino et al. (2009) Fazzino et al. (2008) Pena et al. (2005) Lima et al. (2005) Lima & Urbina (2002) Urbina et al. (1999) Villanueva et al. (2023)
<i>FM/MDD</i>	DAT		s/o	↑ DAT	ARNm	Villanueva et al. (2023)
	SERT		s/o	↔ SERT	ARNm	Villanueva et al. (2023)

Effet du traitement pharmacologique sur l'expression de l'ARNm du SERT dans les PBMC chez les patients MDD, FM et FM/MDD

En premier lieu, en nous basant sur la littérature disponible sur la pharmacologie de la quétiapine sur le SERT, nous savons que ces deux derniers n'interagissent pas directement au niveau moléculaire contrairement aux ISRS ou d'autres antipsychotiques atypiques (Morrisette et Stahl, 2014). Nous émettons l'hypothèse qu'en FM et en FM/MDD, un traitement de quétiapine pourrait augmenter l'expression du SERT par des effets plutôt indirects. De manière similaire, en MDD, nous supposons qu'un traitement antidépresseur (principalement ISRS ou IRSN) augmenterait l'expression du SERT. De fait, en rétablissant à long terme les niveaux de neurotransmission cérébrale de 5-HT, le SERT devrait par mécanisme de rétrocontrôle augmenter son expression.

Chez les patients FM (12 semaines), MDD (8 semaines) et FM/MDD (8 semaines), nos résultats n'arrivent pas à démontrer une différence significative au niveau de l'expression de l'ARNm du SERT avant et après la prise des traitements mentionnés (voir Figure 2). En fait, nous sommes le premier groupe à s'être intéressé à l'interaction entre la quétiapine et le SERT périphérique. Ainsi, nous pouvons comparer des observations similaires avec une étude sur les rats au niveau du SERT cérébral. En effet, la prise de quétiapine sur des rats pendant quatre semaines, n'a pas montré de différence significative de l'expression du SERT dans le noyau caudé ni dans le noyau accumbens (Tarazi *et al.*, 2000). La prise durant 9 semaines d'escitalopram (un ISRS) semble augmenter la présence du SERT dans le noyau du raphé chez les patients présentant un trouble d'anxiété sociale associé à des éléments dépressifs (Hjorth *et al.*, 2022). En périphérie, plusieurs groupes de recherche ont comparé deux médicaments influençant directement le système

sérotoninergique : l'effet de la fluoxétine (un ISRS) (Peña *et al.*, 2005) et de la mirtazapine (un antidépresseur tétracyclique) (Urbina *et al.*, 1999) sur le SERT périphérique. Ces études observent que ces deux molécules augmentent l'expression du SERT au niveau de la membrane des lymphocytes chez les patients dépressifs. Sans oublier que ces patients avaient au préalable une baisse du SERT avant l'introduction de la médication (voir Tableau I et II). Ces données intéressantes semblent suggérer que le SERT pourrait représenter un marqueur potentiel de la réponse au traitement antidépresseur, du moins pour ces deux médicaments. Toutefois des résultats discordants (Iga *et al.*, 2005) indiquent le contraire, c'est-à-dire, que les leucocytes de ces patients dépressifs contiendraient un ARNm du SERT augmenté avant le traitement et que la fluoxétine diminuerait son expression après 8 semaines de traitement. Par ailleurs, nous croyons que cette discordance peut être attribuée aux conditions expérimentales du fait qu'on utilise le sang total plutôt que les PBMC. En conséquence, il semble que l'effet indirect de la quétiapine sur la neurotransmission de la 5-HT n'est pas suffisant pour observer des répercussions significatives sur le SERT contrairement à une médication plus ciblée.

Tel que mentionné auparavant, nous avons eu de la difficulté à détecter l'ARNm du DAT dans nos échantillons (patients et VS). De plus, la PCRq n'a pas été validée ni étudiée comme méthode de détection de l'ARNm du DAT en MDD. Toutefois, en schizophrénie, on aurait réussi à observer une augmentation significative de l'ARNm du DAT dans les leucocytes totaux par rapport aux VS. Ceci est une différence majeure, sachant que les multiples sous-populations de cellules immunitaires n'expriment pas uniformément le DAT (Liu *et al.*, 2013).

Par ailleurs, nous avons quand même fait l'exercice d'isoler statistiquement les patients pour qui le DAT était détecté. Comme pour le SERT, en comparant l'expression de l'ARNm du DAT

avant et après les traitements pharmacologiques, nous n'avons pas observé de changement chez les patients FM (n=14), MDD (n=33) et FM/MDD (n=45) pendant 12, 27 et 8 semaines respectivement (résultats non présentés). À défaut d'avoir de l'information sur l'impact des antidépresseurs utilisés dans notre étude sur l'expression du DAT en périphérie, citons quelques travaux antérieurs examinant le SNC. À titre d'exemple, la quétiapine semble avoir un effet bénéfique sur le système du DAT chez des souris DAT/KO en stabilisant une transmission dopaminergique très débalancée chez ces souris (Powell *et al.*, 2008). Il a aussi été noté que la prise d'antipsychotiques typiques augmentait les niveaux du DAT dans le noyau caudé et dans le noyau accumbens de patients schizophrènes post-mortem (Haberland et Hetey, 1987). Toutefois, des résultats discordants montraient que l'expression du DAT ne variait pas dans le striatum post-mortem de patients schizophrènes (Pearce *et al.*, 1990). D'autre part, des études réalisées sur des rats sains avec et sans prise de quétiapine pendant quatre semaines, n'ont pas montré de différence significative de l'expression du DAT dans le noyau caudé ou le noyau accumbens (Tarazi *et al.*, 2000). Au niveau d'une autre classe pharmacologique, les ISRS, la prise d'escitalopram sur une période de 9 semaines accroît le volume de détection du DAT dans l'amygdale, l'hippocampe, le putamen et le nucleus accumbens chez les patients atteints d'un trouble d'anxiété sociale présentant des éléments dépressifs (Hjorth *et al.*, 2022). En outre, en MDD, la prise de ISRS (fluoxétine, paroxétine) ou IRSN (valénafaxine) sur 24 semaines ne change pas l'expression du DAT chez l'humain (Wu *et al.*, 2013). En bref, vu la nature exploratrice de nos résultats en périphérie sur le DAT, il nous semble invraisemblable qu'une hausse du taux de détection de l'ARNm du DAT dans les PBMC dans ces trois pathologies (FM, MDD et FM/MDD), ne nous permet pas de tirer des conclusions sur leur signification physiopathologique.

Réponse clinique du traitement pharmacologique

Malgré qu'on ne détecte pas de changements dans l'expression de l'ARNm du SERT, dans les conditions de notre étude, à la suite du traitement pharmacologique, on observe toutefois une amélioration clinique importante chez les patients en FM après 12 semaines (Potvin *et al.*, 2012), en MDD après 8 semaines (résultats non publiés) et en FM/MDD après 8 semaines (McIntyre *et al.*, 2014).

Effectivement, pour la FM et la FM/MDD où la quétiapine a été utilisée, les scores de FIQ-TOT mesurant les symptômes de FM et de HAM-D mesurant les symptômes dépressifs sont tous significativement diminués (voir « supplementary table 1 » et « supplementary figure 1 »). Le score « clinical global impression » (CGI) évaluant la sévérité de la maladie et la réponse au traitement est aussi diminué de manière significative en FM et en FM/MDD (résultats non présentés). Cependant, le score de HAM-A qui mesure l'anxiété, démontre une tendance à la baisse après le traitement à la quétiapine, mais celle-ci n'est pas significative en FM ni en FM/MDD. Finalement, le score « Fibromyalgie Impact Questionnaire Pain » (FIQ-PAIN) n'affiche pas d'amélioration après le traitement dans ces deux groupes (résultats non présentés). De plus, pour ce qui est de la MDD, où des ISRS ou IRSN sont utilisés, les scores HAM-A et HAM-D sont statistiquement abaissés après le traitement (voir « supplementary table 1 » et « supplementary figure 2 »).

Ceci suggère que le SERT serait un biomarqueur de trait plutôt que d'état de la MDD. En d'autres mots, l'expression diminuée de l'ARNm du SERT en MDD représente une manifestation biochimique permanente ou à long terme (trait ou prédisposition) de la maladie plutôt qu'un effet transitoire (état clinique). Ainsi, en nous basant sur la littérature, nous croyons

que le SERT périphérique détient un potentiel de marqueur de réponse au traitement antidépresseur excluant la quéliapine.

Forces et limites

Nous voudrions également discuter de certaines forces et limites de notre étude. Premièrement, une des grandes forces de l'étude concerne la puissance statistique conférée par le grand nombre de participants (n=225) tout groupe confondu (FM, MDD, FM/MDD). De plus, les patients de ces études sont suivis de manière longitudinale sur plusieurs semaines avant et après le début du traitement. Les études FM et FM/MDD sont de type randomisé en double aveugle, contrôlées par placebo, tandis que l'étude MDD est longitudinale. Une autre force se situe dans l'utilisation de la PCRq, une technique facile d'accès, peu coûteuse, et rapide pour analyser un grand nombre d'échantillons.

Deuxièmement, dans nos limites, nous observons des différences notables de sexe et d'âge entre les patients et les VS. De fait, les patients sont plus âgés que les VS recrutés. De plus, le sexe féminin est surreprésenté parmi nos patients (sauf pour MDD) tandis que le sexe des VS est hétérogène. À cet égard, la littérature laisse sous-entendre que ces deux variables démographiques influencent l'activité sérotoninergique (Banerjee et Poddar, 2013; Madsen et al., 2011). Par conséquent, si on suppose que la 5-HT circulante baisse avec l'âge, les changements d'expression de l'ARNm du SERT chez les patients en MDD par rapport aux VS pourraient alors s'expliquer. Heureusement, nous avons réalisé des analyses de sous-groupe afin de corriger les variables du sexe et de l'âge. Ces analyses ont réaffirmé que la baisse du SERT demeure significative en MDD.

Troisièmement, l'hétérogénéité des traitements utilisés dans les trois groupes de patients représente une autre limite de l'étude. Effectivement, les patients FM et FM/MDD ont tous été traités par de la quétiapine, alors que le groupe MDD était traité par différents antidépresseurs, principalement des ISRS ou des IRSN. De plus, sachant que la quétiapine n'a pas d'affinité pour le SERT, ceci aurait pu expliquer l'absence de changement d'expression dans les groupes FM et FM/MDD. Toutefois, la littérature à ce sujet demeure absente.

Quatrièmement, la durée des études n'est pas homogène (12 semaines en FM, 8 semaines en MDD et 8 semaines en FM/MDD). Cette différence de temps de suivi pourrait représenter une limitation supposant qu'une plus longue période aurait pu favoriser des changements dans l'expression de l'ARNm du SERT. En fait, il semble qu'en MDD après seulement 20 semaines, les ISRS augmentent le taux de cellules NK et lymphocytes B exprimant le SERT (Hernandez *et al.*, 2010). Ainsi, suivant cette logique, nous n'aurions pas observé de changement de l'expression de l'ARNm du SERT pour l'étude MDD avec une durée de suivi d'uniquement 8 semaines.

Finalement, la difficulté à détecter le DAT en PCRq peut représenter un facteur limitant pour interpréter les valeurs obtenues. Par conséquent, nous avons pensé nécessaire de valider la présence du DAT dans nos conditions par d'autres méthodes de laboratoire. Ainsi, en procédant à des « southern blot » (voir Annexe 1) de contrôle et des « western blot » (voir Annexe 2), nous avons attesté la présence de l'ARNm et de la protéine du DAT respectivement. En revanche, la présence de plaquettes dans nos échantillons aurait pu influencer les valeurs détectées d'ARNm. Heureusement, même si les plaquettes expriment le DAT (annexe 2), dans nos conditions, son ARNm est indétectable dans les plaquettes.

Conclusion

Cette étude fait ressortir l'intérêt du diagnostic de certains désordres psychiques se basant sur la biologie des patients. Sachant qu'il existe un lien étroit entre le SNC et l'immunité, l'étude des PBMC représentait la piste choisie dans cette étude tout en focalisant nos travaux sur la MDD, la FM et la FM/MDD. D'une part, la baisse de l'expression de l'ARNm du SERT dans la MDD apparaît comme un biomarqueur potentiel. En outre, nos résultats du SERT pour la MDD vont dans la même direction que la majorité des études précédentes en MDD pour le SERT en périphérie. Toutefois, pour le DAT, la difficulté à détecter son ARNm dans nos participants nous empêche de tirer des conclusions quant à son utilité comme biomarqueur. D'autre part, le traitement de la FM/MDD et de la FM avec la quétiapine (et de la MDD par des ISRS ou IRSN) ne semble pas avoir d'effets sur l'expression de l'ARNm ni du DAT, ni du SERT dans les PBMC. Nous concluons donc que la baisse de l'expression de l'ARNm du SERT en MDD représente un marqueur de trait dans le temps et indépendant des traitements pharmacologiques, plutôt que d'état de la maladie. En perspective, il sera utile d'apparier davantage les groupes de patients et de sujets contrôles pour minimiser les différences liées au sexe et à l'âge. Nous pourrions aussi considérer d'augmenter le temps de suivi clinique des patients afin de mesurer si le traitement pharmacologique modifie l'expression de ces transporteurs à plus long terme. Enfin, des études ultérieures pourront évaluer la possibilité de combiner la réduction de l'expression du SERT à la hausse de la fréquence de détection du DAT si celle-ci se confirme, pour mettre au point une signature biologique de la MDD.

Bibliographie

- Albrecht, D. S., MacKie, P. J., Kareken, D. A., Hutchins, G. D., Chumin, E. J., Christian, B. T., & Yoder, K. K. (2016). Differential dopamine function in fibromyalgia. *Brain imaging and behavior*, *10*(3), 829–839. <https://doi.org/10.1007/s11682-015-9459-4>
- Al-Nimer, M. S. M., Mohammad, T. A. M., & Alsakeni, R. A. (2018). Serum levels of serotonin as a biomarker of newly diagnosed fibromyalgia in women: Its relation to the platelet indices. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, *23*, 71. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_859_17
- American Diabetes, A. (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, *36 Suppl 1*, S67-74.
- American Psychiatric Association. (2022). Neurodevelopmental disorders. In *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed., text rev.)
- Anderson, G. M., Feibel, F. C., & Cohen, D. J. (1987). Determination of serotonin in whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and plasma ultrafiltrate. *Life sciences*, *40*(11), 1063–1070. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(87\)90568-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90568-6)
- Arreola, R., Becerril-Villanueva, E., Cruz-Fuentes, C., Velasco-Velázquez, M. A., Garcés-Alvarez, M. E., Hurtado-Alvarado, G., Quintero-Fabian, S., & Pavón, L. (2015). Immunomodulatory effects mediated by serotonin. *Journal of immunology research*, *2015*, 354957. <https://doi.org/10.1155/2015/354957>
- Askenase, P. W., Herzog, W. R., Millet, I., Paliwal, V., Ramabhadran, R., Rochester, C., Geba, G. P., & Ptak, W. (1991). Serotonin initiation of delayed-type hypersensitivity: mediation by a primitive Thy-1+ antigen-specific clone or by specific monoclonal IgE antibody. *Skin pharmacology : the official journal of the Skin Pharmacology Society*, *4 Suppl 1*, 25–42. <https://doi.org/10.1159/000210981>
- Assumpção, A., Pagano, T., Matsutani, L. A., Ferreira, E. A., Pereira, C. A., & Marques, A. P. (2010). Quality of life and discriminating power of two questionnaires in fibromyalgia patients: Fibromyalgia Impact Questionnaire and Medical Outcomes Study 36-Item Short-Form Health Survey. *Revista brasileira de fisioterapia (Sao Carlos (Sao Paulo, Brazil))*, *14*(4), 284–289. <https://doi.org/10.1590/s1413-35552010005000015>
- Bahrami, A., Khorasanchi, Z., Sadeghnia, H. R., Tayefi, M., Avan, A., Ferns, G. A., Bahrami-Taghanaki, H., & Ghayour-Mobarhan, M. (2019). Depression in adolescent girls: Relationship to serum vitamins a and E, immune response to heat shock protein 27 and systemic inflammation. *Journal of affective disorders*, *252*, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.04.048>
- Baliki, M. N., Geha, P. Y., Fields, H. L., & Apkarian, A. V. (2010). Predicting value of pain and analgesia: nucleus accumbens response to noxious stimuli changes in the presence of chronic pain. *Neuron*, *66*(1), 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.03.002>
- Banerjee, S., & Poddar, M. K. (2013). Platelet monoamine oxidase-A activity and aging: effect

- of carnosine. *The journal of physiological sciences : JPS*, 63(4), 279–285. <https://doi.org/10.1007/s12576-013-0264-9>
- Basu, B., Sarkar, C., Chakroborty, D., Ganguly, S., Shome, S., Dasgupta, P. S., & Basu, S. (2010). D1 and D2 dopamine receptor-mediated inhibition of activated normal T cell proliferation is lost in jurkat T leukemic cells. *The Journal of biological chemistry*, 285(35), 27026–27032. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.144022>
- Bazzichi, L., Giannaccini, G., Betti, L., Mascia, G., Fabbrini, L., Italiani, P., De Feo, F., Giuliano, T., Giacomelli, C., Rossi, A., Lucacchini, A., & Bombardieri, S. (2006). Alteration of serotonin transporter density and activity in fibromyalgia. *Arthritis research & therapy*, 8(4), R99. <https://doi.org/10.1186/ar1982>
- Belujon, P., & Grace, A. A. (2017). Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 20(12), 1036–1046. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx056>
- Blanco, I., Janciauskiene, S., Nita, I., Fernández-Bustillo, E., Cárcaba, V., Gallo, C., Alvarez-Rico, M., de Serres, F., & Bérizze, N. (2010). Low plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha), and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with alpha1-antitrypsin deficiency-related fibromyalgia. *Clinical rheumatology*, 29(2), 189–197. <https://doi.org/10.1007/s10067-009-1318-5>
- Blumenfeld, H. (2010). *Neuroanatomy through Clinical Cases* (2^e éd.) Sunderland, Sinauer Associates, Inc.
- Bot, M., Milaneschi, Y., Al-Shehri, T., Amin, N., Garmaeva, S., Onderwater, G. L. J., Pool, R., Thesing, C. S., Vijfhuizen, L. S., Vogelzangs, N., Arts, I. C. W., Demirkan, A., van Duijn, C., van Greevenbroek, M., van der Kallen, C. J. H., Köhler, S., Ligthart, L., van den Maagdenberg, A. M. J. M., Mook-Kanamori, D. O., de Mutsert, R., ... BBMRI-NL Metabolomics Consortium (2020). Metabolomics Profile in Depression: A Pooled Analysis of 230 Metabolic Markers in 5283 Cases With Depression and 10,145 Controls. *Biological psychiatry*, 87(5), 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.08.016>
- Buttarelli, F. R., Fanciulli, A., Pellicano, C., & Pontieri, F. E. (2011). The dopaminergic system in peripheral blood lymphocytes: from physiology to pharmacology and potential applications to neuropsychiatric disorders. *Current neuropharmacology*, 9(2), 278–288. <https://doi.org/10.2174/157015911795596612>
- Camardese, G., De Risio, L., Di Nicola, M., Pucci, L., Cocciolillo, F., Bria, P., Giordano, A., Janiri, L., & Di Giuda, D. (2014). Changes of dopamine transporter availability in depressed patients with and without anhedonia: a 123I-N- ω -fluoropropyl-carbomethoxy-3 β - (4-Iodophenyl)tropane SPECT study. *Neuropsychobiology*, 70(4), 235–243. <https://doi.org/10.1159/000368117>
- Cassisi, G., & Sarzi-Puttini, P. (2023). Consistency between the 2016 ACR criteria and a previous diagnosis or hypothesis of fibromyalgia in a specialised referral clinic. *Clinical and experimental rheumatology*, 41(6), 1283–1291. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/mopepq>

- Cerrito, F., Lazzaro, M. P., Gaudio, E., Arminio, P., & Aloisi, G. (1993). 5HT₂-receptors and serotonin release: their role in human platelet aggregation. *Life sciences*, 53(3), 209–215. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90671-o](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90671-o)
- Channer, B., Matt, S. M., Nickoloff-Bybel, E. A., Pappa, V., Agarwal, Y., Wickman, J., & Gaskill, P. J. (2023). Dopamine, Immunity, and Disease. *Pharmacological reviews*, 75(1), 62–158. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.122.000618>
- Chen, Y., Leon-Ponte, M., Pingle, S. C., O'Connell, P. J., & Ahern, G. P. (2015). T lymphocytes possess the machinery for 5-HT synthesis, storage, degradation and release. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 213(4), 860–867. <https://doi.org/10.1111/apha.12470>
- Clauw, D. J., Mease, P., Palmer, R. H., Gendreau, R. M., & Wang, Y. (2008). Milnacipran for the treatment of fibromyalgia in adults: a 15-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose clinical trial. *Clinical therapeutics*, 30(11), 1988–2004. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2008.11.009>.
- Crofford L. J. (2004). Pharmaceutical treatment options for fibromyalgia. *Current rheumatology reports*, 6(4), 274–280. <https://doi.org/10.1007/s11926-004-0035-y>
- Corbetta, M., & Shulman, G. L. (2002). Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 3(3), 201–215. <https://doi.org/10.1038/nrn755>
- Diaz-Piedra, C., Guzman, M. A., Buela-Casal, G., & Catena, A. (2016). The impact of fibromyalgia symptoms on brain morphometry. *Brain imaging and behavior*, 10(4), 1184–1197. <https://doi.org/10.1007/s11682-015-9485-2>
- Dean, J., & Keshavan, M. (2017). The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian journal of psychiatry*, 27, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.025>
- Derry, S., Wiffen, P. J., Häuser, W., Mücke, M., Tölle, T. R., Bell, R. F., & Moore, R. A. (2017). Oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for fibromyalgia in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 3(3), CD012332. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012332.pub2>
- Egloff, N., Sabbioni, M. E., Salathé, C., Wiest, R., & Juengling, F. D. (2009). Nondermatomal somatosensory deficits in patients with chronic pain disorder: clinical findings and hypometabolic pattern in FDG-PET. *Pain*, 145(1-2), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.04.016>
- Ernberg, M., Voog, U., Alstergren, P., Lundeberg, T., & Kopp, S. (2000). Plasma and serum serotonin levels and their relationship to orofacial pain and anxiety in fibromyalgia. *Journal of orofacial pain*, 14(1), 37–46.
- Fazzino, F., Montes, C., Urbina, M., Carreira, I., & Lima, L. (2008). Serotonin transporter is differentially localized in subpopulations of lymphocytes of major depression patients. Effect of fluoxetine on proliferation. *Journal of neuroimmunology*, 196(1-2), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2008.03.012>
- Fazzino, F., Urbina, M., Cedeño, N., & Lima, L. (2009). Fluoxetine treatment to rats modifies serotonin transporter and cAMP in lymphocytes, CD4⁺ and CD8⁺ subpopulations and

- interleukins 2 and 4. *International immunopharmacology*, 9(4), 463–467. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.01.011>
- Fietta, P., Fietta, P., & Manganelli, P. (2007). Fibromyalgia and psychiatric disorders. *Acta Biomed*, 78(2), 88-95.
- Frankhauser, P., Grimmer, Y., Bugert, P., Deuschle, M., Schmidt, M., & Schloss, P. (2006). Characterization of the neuronal dopamine transporter DAT in human blood platelets. *Neuroscience letters*, 399(3), 197–201. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.01.062>
- Foster, J. D., & Vaughan, R. A. (2017). Phosphorylation mechanisms in dopamine transporter regulation. *Journal of chemical neuroanatomy*, 83-84, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2016.10.004>
- Gadad, B. S., Jha, M. K., Czysz, A., Furman, J. L., Mayes, T. L., Emslie, M. P., & Trivedi, M. H. (2018). Peripheral biomarkers of major depression and antidepressant treatment response: Current knowledge and future outlooks. *Journal of affective disorders*, 233, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.07.001>
- Gackière, F., & Vinay, L. (2014). Serotonergic modulation of post-synaptic inhibition and locomotor alternating pattern in the spinal cord. *Frontiers in neural circuits*, 8, 102. <https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00102>
- Gershon, M. D., & Tack, J. (2007). The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*, 132(1), 397–414. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.11.002>
- Ghia, J. E., Li, N., Wang, H., Collins, M., Deng, Y., El-Sharkawy, R. T., Côté, F., Mallet, J., & Khan, W. I. (2009). Serotonin has a key role in pathogenesis of experimental colitis. *Gastroenterology*, 137(5), 1649–1660. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.08.041>
- Gilheaney, Ó., & Chadwick, A. (2023). The Prevalence and Nature of Eating and Swallowing Problems in Adults with Fibromyalgia: A Systematic Review. *Dysphagia*, 10.1007/s00455-023-10597-8. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s00455-023-10597-8>
- Goldenberg, D. L., Clauw, D. J., Palmer, R. E., & Clair, A. G. (2016). Opioid Use in Fibromyalgia: A Cautionary Tale. *Mayo Clinic proceedings*, 91(5), 640–648. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.02.002>
- Haberland, N., & Hetey, L. (1987). Studies in postmortem dopamine uptake. II. Alterations of the synaptosomal catecholamine uptake in postmortem brain regions in schizophrenia. *Journal of neural transmission*, 68(3-4), 303–313. <https://doi.org/10.1007/BF02098505>
- Hackshaw K. V. (2021). The Search for Biomarkers in Fibromyalgia. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(2), 156. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020156>
- Hamilton M. (1959). The assessment of anxiety states by rating. *The British journal of medical psychology*, 32(1), 50–55. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8341.1959.tb00467.x>

- Hamilton M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 23(1), 56–62. <https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56>
- Hao, S., Shi, W., Liu, W., Chen, Q. Y., & Zhuo, M. (2023). Multiple modulatory roles of serotonin in chronic pain and injury-related anxiety. *Frontiers in synaptic neuroscience*, 15, 1122381. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2023.1122381>
- Häuser, W., Petzke, F., Üçeyler, N., & Sommer, C. (2011). Comparative efficacy and acceptability of amitriptyline, duloxetine and milnacipran in fibromyalgia syndrome: a systematic review with meta-analysis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 50(3), 532–543. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq354>
- Henao-Pérez, M., López-Medina, D. C., Arboleda, A., Bedoya Monsalve, S., & Zea, J. A. (2022). Patients With Fibromyalgia, Depression, and/or Anxiety and Sex Differences. *American journal of men's health*, 16(4), 15579883221110351. <https://doi.org/10.1177/15579883221110351>.
- Hernandez, M. E., Martinez-Fong, D., Perez-Tapia, M., Estrada-Garcia, I., Estrada-Parra, S., & Pavón, L. (2010). Evaluation of the effect of selective serotonin-reuptake inhibitors on lymphocyte subsets in patients with a major depressive disorder. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 20(2), 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.11.005>
- Herr, N., Bode, C., & Duerschmied, D. (2017). The Effects of Serotonin in Immune Cells. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 4, 48. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00048>
- Hjorth, O., Frick, A., Gingnell, M., Engman, J., Björkstrand, J., Faria, V., Alaie, I., Carlbring, P., Andersson, G., Jonasson, M., Lubberink, M., Antoni, G., Reis, M., Wahlstedt, K., Fredrikson, M., & Furmark, T. (2022). Serotonin and dopamine transporter availability in social anxiety disorder after combined treatment with escitalopram and cognitive-behavioral therapy. *Translational psychiatry*, 12(1), 436. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02187-3>
- Horváth C. (2014). Alterations in brain temperatures as a possible cause of migraine headache. *Medical hypotheses*, 82(5), 529–534. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.02.004>
- Huang, W. S., Huang, S. Y., Ho, P. S., Ma, K. H., Huang, Y. Y., Yeh, C. B., Liu, R. S., Cheng, C. Y., & Shiue, C. Y. (2013). PET imaging of the brain serotonin transporters (SERT) with N,N-dimethyl-2-(2-amino-4-[18F]fluorophenylthio)benzylamine (4-[18F]-ADAM) in humans: a preliminary study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 40(1), 115–124. <https://doi.org/10.1007/s00259-012-2250-5>
- Huang, X., Yin, H., Wan, X. X., Fu, B., Tang, B., & Lei, J. (2022). Maternal plasma serotonin level not suitable as postpartum depression diagnostic biomarker: Results from a prospective cohort study. *Journal of affective disorders*, 298(Pt A), 284–291. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.11.001>
- Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., Motoki, I., Tayoshi, S., Ohta, K., Song, H., Morita, K., Rokutan,

- K., & Ohmori, T. (2005). Serotonin transporter mRNA expression in peripheral leukocytes of patients with major depression before and after treatment with paroxetine. *Neuroscience letters*, 389(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.06.048>
- Ioachim, G., Warren, H. J. M., Powers, J. M., Staud, R., Pukall, C. F., & Stroman, P. W. (2022). Altered Pain in the Brainstem and Spinal Cord of Fibromyalgia Patients During the Anticipation and Experience of Experimental Pain. *Frontiers in neurology*, 13, 862976. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.862976>
- Ivanets, N. N., Svistunov, A. A., Chubarev, V. N., Kinkulkina, M. A., Tikhonova, Y. G., Syzrantsev, N. S., Sologova, S. S., Ignatyeva, N. V., Mutig, K., & Tarasov, V. V. (2021). Can Molecular Biology Propose Reliable Biomarkers for Diagnosing Major Depression?. *Current pharmaceutical design*, 27(2), 305–318. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201124110437>
- Jaiswal, P., Mohanakumar, K. P., & Rajamma, U. (2015). Serotonin mediated immunoregulation and neural functions: Complicity in the aetiology of autism spectrum disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 55, 413–431. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.05.013>
- Janssen, L. P., Medeiros, L. F., Souza, A., & Silva, J. D. (2021). Fibromyalgia: A Review of Related Polymorphisms and Clinical Relevance. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 93(suppl 4), e20210618. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120210618>
- Jensen, K. B., Loitoile, R., Kosek, E., Petzke, F., Carville, S., Fransson, P., Marcus, H., Williams, S. C., Choy, E., Mainguy, Y., Vitton, O., Gracely, R. H., Gollub, R., Ingvar, M., & Kong, J. (2012). Patients with fibromyalgia display less functional connectivity in the brain's pain inhibitory network. *Molecular pain*, 8, 32. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-8-32>
- Jensen, K. B., Srinivasan, P., Spaeth, R., Tan, Y., Kosek, E., Petzke, F., Carville, S., Fransson, P., Marcus, H., Williams, S. C., Choy, E., Vitton, O., Gracely, R., Ingvar, M., & Kong, J. (2013). Overlapping structural and functional brain changes in patients with long-term exposure to fibromyalgia pain. *Arthritis and rheumatism*, 65(12), 3293–3303. <https://doi.org/10.1002/art.38170>
- Kaasinen, V., Honkanen, E. A., Lindholm, K., Jaakkola, E., Majuri, J., Parkkola, R., Noponen, T., Vahlberg, T., Voon, V., Clark, L., Joutsa, J., & Seppänen, M. (2023). Serotonergic and dopaminergic control of impulsivity in gambling disorder. *Addiction biology*, 28(2), e13264. <https://doi.org/10.1111/adb.13264>
- Kaltsas, G., & Tsiveriotis, K. (2020). Fibromyalgia. In K. R. Feingold (Eds.) et. al., *Endotext*. MDText.com, Inc.
- Kang, S. G., & Cho, S. E. (2020). Neuroimaging Biomarkers for Predicting Treatment Response and Recurrence of Major Depressive Disorder. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2148. <https://doi.org/10.3390/ijms21062148>
- Klega, A. E., & Keehbauch, J. T. (2018). Stimulant and Designer Drug Use: Primary Care Management. *American family physician*, 98(2), 85–92.

- Kim, H., Chen, L., Lim, G., Sung, B., Wang, S., McCabe, M. F., Rusanescu, G., Yang, L., Tian, Y., & Mao, J. (2012). Brain indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the comorbidity of pain and depression. *The Journal of clinical investigation*, *122*(8), 2940–2954. <https://doi.org/10.1172/JCI61884>
- Kushnir-Sukhov, N. M., Brittain, E., Scott, L., & Metcalfe, D. D. (2008). Clinical correlates of blood serotonin levels in patients with mastocytosis. *European journal of clinical investigation*, *38*(12), 953–958. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.02047.x>
- Kushnir-Sukhov, N. M., Brown, J. M., Wu, Y., Kirshenbaum, A., & Metcalfe, D. D. (2007). Human mast cells are capable of serotonin synthesis and release. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *119*(2), 498–499. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.09.003>
- Kocabas, N. A., Faghel, C., Barreto, M., Kasper, S., Linotte, S., Mendlewicz, J., Noro, M., Oswald, P., Souery, D., Zohar, J., & Massat, I. (2010). The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case-control association study. *International clinical psychopharmacology*, *25*(4), 218–227. <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e328338b884>
- Lai C. H. (2013). Gray matter volume in major depressive disorder: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Psychiatry research*, *211*(1), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.06.006>
- Lechin, F., van der Dijks, B., Orozco, B., Lechin, M., & Lechin, A. E. (1996). Increased levels of free serotonin in plasma of symptomatic asthmatic patients. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, *77*(3), 245–253. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63263-2](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63263-2)
- Ledermann, K., Hasler, G., Jenewein, J., Sprott, H., Schnyder, U., & Martin-Soelch, C. (2020). 5'UTR polymorphism in the serotonergic receptor HTR3A gene is differently associated with striatal Dopamine D2/D3 receptor availability in the right putamen in Fibromyalgia patients and healthy controls-Preliminary evidence. *Synapse (New York, N.Y.)*, *74*(5), e22147. <https://doi.org/10.1002/syn.22147>
- León-Ponte, M., Ahern, G. P., & O'Connell, P. J. (2007). Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor. *Blood*, *109*(8), 3139–3146. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-052787>
- Levchenko, A., Nurgaliev, T., Kanapin, A., Samsonova, A., & Gainetdinov, R. R. (2020). Current challenges and possible future developments in personalized psychiatry with an emphasis on psychotic disorders. *Heliyon*, *6*(5), e03990. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03990>
- Li, X., Chauhan, A., Sheikh, A. M., Patil, S., Chauhan, V., Li, X. M., Ji, L., Brown, T., & Malik, M. (2009). Elevated immune response in the brain of autistic patients. *Journal of neuroimmunology*, *207*(1-2), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2008.12.002>
- Lima, L., & Urbina, M. (2002). Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cellular and molecular neurobiology*, *22*(5-6), 797–804. <https://doi.org/10.1023/a:1021869310702>
- Lima, L., Mata, S., & Urbina, M. (2005). Allelic isoforms and decrease in serotonin

- transporter mRNA in lymphocytes of patients with major depression. *Neuroimmunomodulation*, 12(5), 299–306. <https://doi.org/10.1159/000087108>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Liu, L., Yuan, G., Cheng, Z., Zhang, G., Liu, X., & Zhang, H. (2013). Identification of the mRNA expression status of the dopamine D2 receptor and dopamine transporter in peripheral blood lymphocytes of schizophrenia patients. *PLoS one*, 8(9), e75259. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075259>
- Liu, Q. Q., Yao, X. X., Gao, S. H., Li, R., Li, B. J., Yang, W., & Cui, R. J. (2020). Role of 5-HT receptors in neuropathic pain: potential therapeutic implications. *Pharmacological research*, 159, 104949. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104949>
- Loftis, J. M., Huckans, M., & Morasco, B. J. (2010). Neuroimmune mechanisms of cytokine-induced depression: current theories and novel treatment strategies. *Neurobiology of disease*, 37(3), 519–533. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.11.015>
- Løge-Hagen, J. S., Sæle, A., Juhl, C., Bech, P., Stenager, E., & Mellentin, A. I. (2019). Prevalence of depressive disorder among patients with fibromyalgia: Systematic review and meta-analysis. *Journal of affective disorders*, 245, 1098–1105. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.12.001>
- Madsen, K., Haahr, M. T., Marnier, L., Keller, S. H., Baaré, W. F., Svarer, C., Hasselbalch, S. G., & Knudsen, G. M. (2011). Age and sex effects on 5-HT(4) receptors in the human brain: a [(11)C]SB207145 PET study. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 31(6), 1475–1481. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.11>
- Malhi, G. S., & Mann, J. J. (2018). Depression. *Lancet (London, England)*, 392(10161), 2299–2312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31948-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31948-2)
- Malykhin, N. V., & Coupland, N. J. (2015). Hippocampal neuroplasticity in major depressive disorder. *Neuroscience*, 309, 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.047>
- Manzke, T., Niebert, M., Koch, U. R., Caley, A., Vogelgesang, S., Hülsmann, S., Ponimaskin, E., Müller, U., Smart, T. G., Harvey, R. J., & Richter, D. W. (2010). Serotonin receptor 1A-modulated phosphorylation of glycine receptor $\alpha 3$ controls breathing in mice. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 4118–4128. <https://doi.org/10.1172/JCI43029>
- Marazziti, D., Consoli, G., Masala, I., Catena Dell'Osso, M., & Baroni, S. (2010). Latest advancements on serotonin and dopamine transporters in lymphocytes. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 10(1), 32–40. <https://doi.org/10.2174/138955710791112587>
- Marazziti, D., Baroni, S., Giannaccini, G., Piccinni, A., Mucci, F., Catena-Dell'Osso, M., Rutigliano, G., Massimetti, G., & Dell'Osso, L. (2017). Decreased lymphocyte dopamine transporter in romantic lovers. *CNS spectrums*, 22(3), 290–294. <https://doi.org/10.1017/S109285291600050X>

- Marchand, S. (2011). *Quetiapine (Seroquel XR) for the Treatment of Fibromyalgia: a Clinical and Mechanistic Pilot Study*. Université de Sherbrooke. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00983320>
- Marvisi, M., Balzarini, L., Mancini, C., Ramponi, S., & Marvisi, C. (2015). Fibromyalgia is frequent in obstructive sleep apnea and responds to CPAP therapy. *European journal of internal medicine*, 26(9), e49–e50. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2015.06.010>
- Mrazek, D. A., Rush, A. J., Biernacka, J. M., O'Kane, D. J., Cunningham, J. M., Wieben, E. D., Schaid, D. J., Drews, M. S., Courson, V. L., Snyder, K. A., Black, J. L., 3rd, & Weinshilboum, R. M. (2009). SLC6A4 variation and citalopram response. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 150B(3), 341–351. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30816>
- Matkar, N. M., Rupwate, R. U., Desai, N. K., & Kamat, S. R. (1999). Comparative study of platelet histamine and serotonin with their corresponding plasma oxidases in asthmatics with normals. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 47(9), 878–882.
- Matt, S. M., & Gaskill, P. J. (2020). Where Is Dopamine and how do Immune Cells See it?: Dopamine-Mediated Immune Cell Function in Health and Disease. *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 15(1), 114–164. <https://doi.org/10.1007/s11481-019-09851-4>
- Marques, A. P., Santo, A. S. D. E., Berssaneti, A. A., Matsutani, L. A., & Yuan, S. L. K. (2017). Prevalence of fibromyalgia: literature review update. *Revista brasileira de reumatologia*, 57(4), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.rbre.2017.01.005>
- McIntyre, A., Paisley, D., Kouassi, E., & Gendron, A. (2014). Quetiapine fumarate extended-release for the treatment of major depression with comorbid fibromyalgia syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 66(2), 451–461. <https://doi.org/10.1002/art.38228>
- Metyas, S. K., Solyman, J. S., & Arkfeld, D. G. (2015). Inflammatory Fibromyalgia: Is it Real?. *Current rheumatology reviews*, 11(1), 15–17. <https://doi.org/10.2174/1573397111666150522095004>
- Meyer J. H. (2007). Imaging the serotonin transporter during major depressive disorder and antidepressant treatment. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*, 32(2), 86–102.
- Meyer, J. H., Krüger, S., Wilson, A. A., Christensen, B. K., Goulding, V. S., Schaffer, A., Minifie, C., Houle, S., Hussey, D., & Kennedy, S. H. (2001). Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. *Neuroreport*, 12(18), 4121–4125. <https://doi.org/10.1097/00001756-200112210-00052>
- Mihaljevic Peles, A., Bozina, N., Sagud, M., Rojnic Kuzman, M., & Lovric, M. (2008). MDR1 gene polymorphism: therapeutic response to paroxetine among patients with major depression. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 32(6), 1439–1444. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.03.018>
- Mittal, R., Debs, L. H., Patel, A. P., Nguyen, D., Patel, K., O'Connor, G., Grati, M., Mittal, J., Yan, D., Eshraghi, A. A., Deo, S. K., Daunert, S., & Liu, X. Z. (2017).

- Neurotransmitters: The Critical Modulators Regulating Gut-Brain Axis. *Journal of cellular physiology*, 232(9), 2359–2372. <https://doi.org/10.1002/jcp.25518>
- Miller, J. M., Hesselgrave, N., Ogden, R. T., Zanderigo, F., Oquendo, M. A., Mann, J. J., & Parsey, R. V. (2013). Brain serotonin 1A receptor binding as a predictor of treatment outcome in major depressive disorder. *Biological psychiatry*, 74(10), 760–767. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.021>
- Morrisette, D. A., & Stahl, S. M. (2014). Modulating the serotonin system in the treatment of major depressive disorder. *CNS spectrums*, 19 Suppl 1, 57–68. <https://doi.org/10.1017/S1092852914000613>
- Mössner, R., & Lesch, K. P. (1998). Role of serotonin in the immune system and in neuroimmune interactions. *Brain, behavior, and immunity*, 12(4), 249–271. <https://doi.org/10.1006/brbi.1998.0532>
- Mössner, R., Mikova, O., Koutsilieri, E., Saoud, M., Ehli, A. C., Müller, N., Fallgatter, A. J., & Riederer, P. (2007). Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: biological markers in depression. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 8(3), 141–174. <https://doi.org/10.1080/15622970701263303>
- Moncrieff, J., Cooper, R. E., Stockmann, T., Amendola, S., Hengartner, M. P., & Horowitz, M. A. (2022). The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Molecular psychiatry*, 10.1038/s41380-022-01661-0. Advance online publication.
- Mojtabai, R., & Olfson, M. (2008). National patterns in antidepressant treatment by psychiatrists and general medical providers: results from the national comorbidity survey replication. *The Journal of clinical psychiatry*, 69(7), 1064–1074. <https://doi.org/10.4088/jcp.v69n0704>
- Müller, C. P., & Homberg, J. R. (2015). The role of serotonin in drug use and addiction. *Behavioural brain research*, 277, 146–192. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.04.007>
- Murai, N., Fushiki, H., Honda, S., Murakami, Y., Iwashita, A., Irie, M., Tamura, S., Nagakura, Y., & Aoki, T. (2015). Relationship between serotonin transporter occupancies and analgesic effects of AS1069562, the (+)-isomer of indeloxazine, and duloxetine in reserpine-induced myalgia rats. *Neuroscience*, 289, 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.12.065>
- Nakamura, K., Sato, T., Ohashi, A., Tsurui, H., & Hasegawa, H. (2008). Role of a serotonin precursor in development of gut microvilli. *The American journal of pathology*, 172(2), 333–344. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070358>
- Naoi, M., Maruyama, W., & Shamoto-Nagai, M. (2018). Type A monoamine oxidase and serotonin are coordinately involved in depressive disorders: from neurotransmitter imbalance to impaired neurogenesis. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 125(1), 53–66. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1709-8>
- Neumeister, M. W., & Neumeister, E. L. (2020). Fibromyalgia. *Clinics in plastic surgery*, 47(2),

203–213. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2019.12.007>

- Nikolaus, S., Antke, C., & Müller, H. W. (2009). In vivo imaging of synaptic function in the central nervous system: II. Mental and affective disorders. *Behavioural brain research*, 204(1), 32–66. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.009>
- O'Connell, P. J., Wang, X., Leon-Ponte, M., Griffiths, C., Pingle, S. C., & Ahern, G. P. (2006). A novel form of immune signaling revealed by transmission of the inflammatory mediator serotonin between dendritic cells and T cells. *Blood*, 107(3), 1010–1017. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2903>
- Organisation mondiale de la santé. (2023, 31 mars). *Depressive disorder (depression)*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- Owens, T., Tran, E., Hassan-Zahraee, M., & Krakowski, M. (1998). Immune cell entry to the CNS--a focus for immunoregulation of EAE. *Research in immunology*, 149(9), 781–860. [https://doi.org/10.1016/s0923-2494\(99\)80005-4](https://doi.org/10.1016/s0923-2494(99)80005-4)
- Pacheco, R., Prado, C. E., Barrientos, M. J., & Bernales, S. (2009). Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. *Journal of neuroimmunology*, 216(1-2), 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.07.018>.
- Pearce, R. K., Seeman, P., Jellinger, K., & Tourtellotte, W. W. (1990). Dopamine uptake sites and dopamine receptors in Parkinson's disease and schizophrenia. *European neurology*, 30 Suppl 1, 9–14. <https://doi.org/10.1159/000117168>
- Peciña, M., Sikora, M., Avery, E. T., Heffernan, J., Peciña, S., Mickey, B. J., & Zubieta, J. K. (2017). Striatal dopamine D2/3 receptor-mediated neurotransmission in major depression: Implications for anhedonia, anxiety and treatment response. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 27(10), 977–986. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.08.427>
- Peña, S., Baccichet, E., Urbina, M., Carreira, I., & Lima, L. (2005). Effect of mirtazapine treatment on serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of major depression patients. *International immunopharmacology*, 5(6), 1069–1076. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2005.02.005>
- Porcelli, S., Fabbri, C., Spina, E., Serretti, A., & De Ronchi, D. (2011). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes and antidepressant metabolism. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 7(9), 1101–1115. <https://doi.org/10.1517/17425255.2011.597740>
- Potvin, S., Morin, M., Cloutier, C., Gendron, A., Bissonnette, A., & Marchand, S. (2012). Add-on treatment of quetiapine for fibromyalgia: a pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled 12-week trial. *Journal of clinical psychopharmacology*, 32(5), 684–687. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e318267b8ca>
- Powell, S. B., Young, J. W., Ong, J. C., Caron, M. G., & Geyer, M. A. (2008). Atypical antipsychotics clozapine and quetiapine attenuate prepulse inhibition deficits in dopamine transporter knockout mice. *Behavioural pharmacology*, 19(5-6), 562–565. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32830dc110>

- Prieto, E., Mico, J. A., Meana, J. J., & Majadas, S. (2010). Neurobiological bases of quetiapine antidepressant effect in the bipolar disorder. *Actas Esp Psiquiatr*, 38(1), 22-32.
- Pu, M., Zhang, Z., Xu, Z., Shi, Y., Geng, L., Yuan, Y., Zhang, X., & Reynolds, G. P. (2013). Influence of genetic polymorphisms in the glutamatergic and GABAergic systems and their interactions with environmental stressors on antidepressant response. *Pharmacogenomics*, 14(3), 277–288. <https://doi.org/10.2217/pgs.13.1>
- Qian, Y., Melikian, H. E., Rye, D. B., Levey, A. I., & Blakely, R. D. (1995). Identification and characterization of antidepressant-sensitive serotonin transporter proteins using site-specific antibodies. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(2), 1261–1274. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-02-01261.1995>
- Queiroz, B. F. G., Fonseca, F. C. S., Ferreira, R. C. M., Romero, T. R. L., Perez, A. C., & Duarte, I. D. G. (2022). Analgesia and pain: Dual effect of dopamine on the peripheral nociceptive system is dependent on D₂-or D₁-like receptor activation. *European journal of pharmacology*, 922, 174872. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174872>
- Raffaeli, W., Malafoglia, V., Bonci, A., Tenti, M., Ilari, S., Gremigni, P., Iannuccelli, C., Gioia, C., Di Franco, M., Mollace, V., Vitiello, L., Tomino, C., & Muscoli, C. (2020). Identification of MOR-Positive B Cell as Possible Innovative Biomarker (Mu Lympho-Marker) for Chronic Pain Diagnosis in Patients with Fibromyalgia and Osteoarthritis Diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1499. <https://doi.org/10.3390/ijms21041499>
- Ramamoorthy, S., Shippenberg, T. S., & Jayanthi, L. D. (2011). Regulation of monoamine transporters: Role of transporter phosphorylation. *Pharmacology & therapeutics*, 129(2), 220–238. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.09.009>
- Ravna, A. W., Sylte, I., & Dahl, S. G. (2009). Structure and localisation of drug binding sites on neurotransmitter transporters. *Journal of molecular modeling*, 15(10), 1155–1164. <https://doi.org/10.1007/s00894-009-0478-1>
- Ray, R. S., Corcoran, A. E., Brust, R. D., Kim, J. C., Richerson, G. B., Nattie, E., & Dymecki, S. M. (2011). Impaired respiratory and body temperature control upon acute serotonergic neuron inhibition. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6042), 637–642. <https://doi.org/10.1126/science.1205295>
- Ricci, M., Cimini, A., Grivet Fojaja, M. R., Ullo, M., Carabellese, B., Frantellizzi, V., & Lubrano, E. (2022). Novel Approaches in Molecular Imaging and Neuroimaging of Fibromyalgia. *International journal of molecular sciences*, 23(24), 15519. <https://doi.org/10.3390/ijms232415519>
- Rihmer, Z., Dome, P., & Katona, C. (2022). Serotonin and depression - a riposte to Moncrieff et al. (2022). *Neuropsychopharmacologia Hungarica : a Magyar Pszichofarmakologiai Egyesület lapja = official journal of the Hungarian Association of Psychopharmacology*, 24(3), 120–125.
- Rodan, L. H., Gibson, K. M., & Pearl, P. L. (2015). Clinical Use of CSF Neurotransmitters. *Pediatric neurology*, 53(4), 277–286.

<https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2015.04.016>

- Rudnick, G., & Wall, S. C. (1992). The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(5), 1817–1821. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.5.1817>
- Rudnick, G., & Sandtner, W. (2019). Serotonin transport in the 21st century. *The Journal of general physiology*, 151(11), 1248–1264. <https://doi.org/10.1085/jgp.201812066>
- Ryabkova, V. A., Churilov, L. P., & Shoenfeld, Y. (2019). Neuroimmunology: What Role for Autoimmunity, Neuroinflammation, and Small Fiber Neuropathy in Fibromyalgia, Chronic Fatigue Syndrome, and Adverse Events after Human Papillomavirus Vaccination?. *International journal of molecular sciences*, 20(20), 5164. <https://doi.org/10.3390/ijms20205164>
- Saier M. H., Jr (2000). A functional-phylogenetic classification system for transmembrane solute transporters. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 64(2), 354–411. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.2.354-411.2000>
- Santos, D.deM., Lage, L. V., Jabur, E. K., Kaziyama, H. H., Iosifescu, D. V., Lucia, M. C., & Fraguas, R. (2011). The association of major depressive episode and personality traits in patients with fibromyalgia. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 66(6), 973–978. <https://doi.org/10.1590/s1807-59322011000600009>
- Santos, D. M., Lage, L. V., Jabur, E. K., Kaziyama, H. H. S., Iosifescu, D. V., De Lucia, M. C. S., & Fráguas, R. (2017). The influence of depression on personality traits in patients with fibromyalgia: a case-control study. *Clinical and experimental rheumatology*, 35 Suppl 105(3), 13–19.
- Sarchiapone, M., Carli, V., Camardese, G., Cuomo, C., Di Giuda, D., Calcagni, M. L., Focacci, C., & De Risio, S. (2006). Dopamine transporter binding in depressed patients with anhedonia. *Psychiatry research*, 147(2-3), 243–248. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2006.03.001>
- Sarkar, C., Basu, B., Chakraborty, D., Dasgupta, P. S., & Basu, S. (2010). The immunoregulatory role of dopamine: an update. *Brain, behavior, and immunity*, 24(4), 525–528. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.10.015>
- Schoenichen, C., Bode, C., & Duerschmied, D. (2019). Role of platelet serotonin in innate immune cell recruitment. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 24(3), 514–526. <https://doi.org/10.2741/4732>
- Schüle, C., Baghai, T. C., Eser, D., Schwarz, M., Bondy, B., & Rupprecht, R. (2009). Effects of mirtazapine on dehydroepiandrosterone-sulfate and cortisol plasma concentrations in depressed patients. *Journal of psychiatric research*, 43(5), 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2008.07.003>
- Sevimli, D., Kozanoglu, E., Guzel, R., & Doganay, A. (2015). The effects of aquatic, isometric strength-stretching and aerobic exercise on physical and psychological parameters of female patients with fibromyalgia syndrome. *Journal of physical therapy science*, 27(6), 1781–1786. <https://doi.org/10.1589/jpts.27.1781>

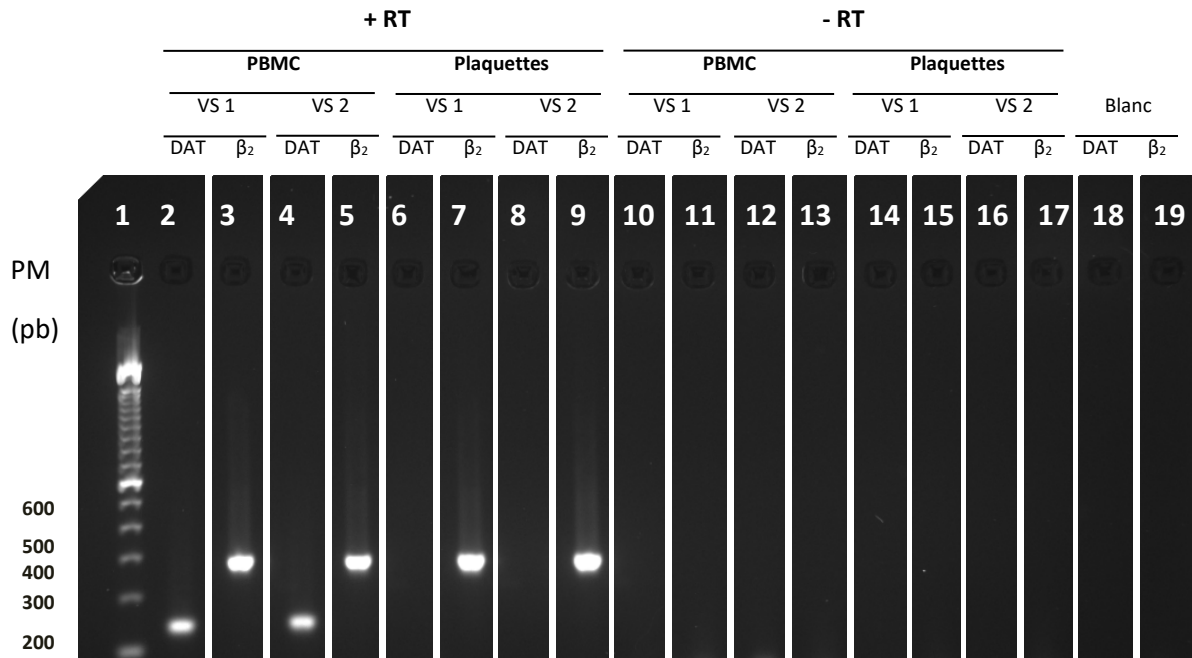
- Seehusen, D. A., & Bain, R. (2017). Antipsychotics for Fibromyalgia in Adults. *American family physician*, 96(3).
- Serretti, A., Fabbri, C., Pellegrini, S., Porcelli, S., Politi, P., Bellino, S., Menchetti, M., Mariotti, V., Demi, C., Martinelli, V., Cappucciati, M., Bozzatello, P., Brignolo, E., Brambilla, P., Pae, C. U., Balestrieri, M., & De Ronchi, D. (2013). No effect of serotonergic gene variants on response to interpersonal counseling and antidepressants in major depression. *Psychiatry investigation*, 10(2), 180–189. <https://doi.org/10.4306/pi.2013.10.2.180>
- Sheline, Y. I., Price, J. L., Yan, Z., & Mintun, M. A. (2010). Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(24), 11020–11025. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000446107>
- Shimizu, S., Mizuguchi, Y., & Ohno, Y. (2013). Improving the treatment of schizophrenia: role of 5-HT receptors in modulating cognitive and extrapyramidal motor functions. *CNS & neurological disorders drug targets*, 12(6), 861–869. <https://doi.org/10.2174/18715273113129990088>
- Siracusa, R., Paola, R. D., Cuzzocrea, S., & Impellizzeri, D. (2021). Fibromyalgia: Pathogenesis, Mechanisms, Diagnosis and Treatment Options Update. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 3891. <https://doi.org/10.3390/ijms22083891>
- Sluka, K. A., & Clauw, D. J. (2016). Neurobiology of fibromyalgia and chronic widespread pain. *Neuroscience*, 338, 114–129. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.006>
- Smith, G. S., Kuwabara, H., Gould, N. F., Nassery, N., Savonenko, A., Joo, J. H., Bigos, K. L., Kraut, M., Brasic, J., Holt, D. P., Hall, A. W., Mathews, W. B., Dannals, R. F., Nandi, A., & Workman, C. I. (2021). Molecular imaging of the serotonin transporter availability and occupancy by antidepressant treatment in late-life depression. *Neuropharmacology*, 194, 108447. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108447>
- Stahl, S. M. (2008). *Stahl's essential psychopharmacology : neuroscientific basis and practical applications* (3^e éd.) Cambridge: Cambridge University Press.
- Stahl S. M. (2009). Fibromyalgia--pathways and neurotransmitters. *Human psychopharmacology*, 24 Suppl 1, S11–S17. <https://doi.org/10.1002/hup.1029>
- Strawbridge, R., Arnone, D., Danese, A., Papadopoulos, A., Herane Vives, A., & Cleare, A. J. (2015). Inflammation and clinical response to treatment in depression: A meta-analysis. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 25(10), 1532–1543. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.06.007>
- Su, L., Cai, Y., Xu, Y., Dutt, A., Shi, S., & Bramon, E. (2014). Cerebral metabolism in major depressive disorder: a voxel-based meta-analysis of positron emission tomography studies. *BMC psychiatry*, 14, 321. <https://doi.org/10.1186/s12888-014-0321-9>
- Taniguchi, W., Nakatsuka, T., Miyazaki, N., Yamada, H., Takeda, D., Fujita, T., Kumamoto, E., & Yoshida, M. (2011). In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive

- actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain*, 152(1), 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.09.034>
- Tarazi, F. I., Zhang, K., & Baldessarini, R. J. (2000). Olanzapine, quetiapine, and risperidone: long-term effects on monoamine transporters in rat forebrain. *Neuroscience letters*, 287(2), 81–84. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01130-7](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01130-7)
- Tayebati, S. K., Lokhandwala, M. F., & Amenta, F. (2011). Dopamine and vascular dynamics control: present status and future perspectives. *Current neurovascular research*, 8(3), 246–257. <https://doi.org/10.2174/156720211796558032>
- Terry, N., & Margolis, K. G. (2017). Serotonergic Mechanisms Regulating the GI Tract: Experimental Evidence and Therapeutic Relevance. *Handbook of experimental pharmacology*, 239, 319–342. https://doi.org/10.1007/164_2016_103
- Thygesen, K., Alpert, J. S., Jaffe, A. S., Chaitman, B. R., Bax, J. J., Morrow, D. A., White, H. D., & Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Journal of the American College of Cardiology*, 72(18), 2231–2264. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.08.1038>
- Treister, R., Pud, D., Ebstein, R. P., Laiba, E., Gershon, E., Haddad, M., & Eisenberg, E. (2009). Associations between polymorphisms in dopamine neurotransmitter pathway genes and pain response in healthy humans. *Pain*, 147(1-3), 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.09.001>
- Tsao, C. W., Lin, Y. S., Chen, C. C., Bai, C. H., & Wu, S. R. (2006). Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 30(5), 899–905. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.01.029>
- Tyano, S., Zalsman, G., Ofek, H., Blum, I., Apter, A., Wolovik, L., Sher, L., Sommerfeld, E., Harell, D., & Weizman, A. (2006). Plasma serotonin levels and suicidal behavior in adolescents. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 16(1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2005.05.005>
- Urbina, M., Pineda, S., Piñango, L., Carreira, I., & Lima, L. (1999). [3H]Paroxetine binding to human peripheral lymphocyte membranes of patients with major depression before and after treatment with fluoxetine. *International journal of immunopharmacology*, 21(10), 631–646. [https://doi.org/10.1016/s0192-0561\(99\)00035-1](https://doi.org/10.1016/s0192-0561(99)00035-1)
- van der Poll, T., & Parker, R. I. (2020). Platelet Activation and Endothelial Cell Dysfunction. *Critical care clinics*, 36(2), 233–253. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.11.002>
- Vargas, D. L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A. W., & Pardo, C. A. (2005). Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of neurology*, 57(1), 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>
- Wang, S., Leri, F., & Rizvi, S. J. (2021). Anhedonia as a central factor in depression: Neural

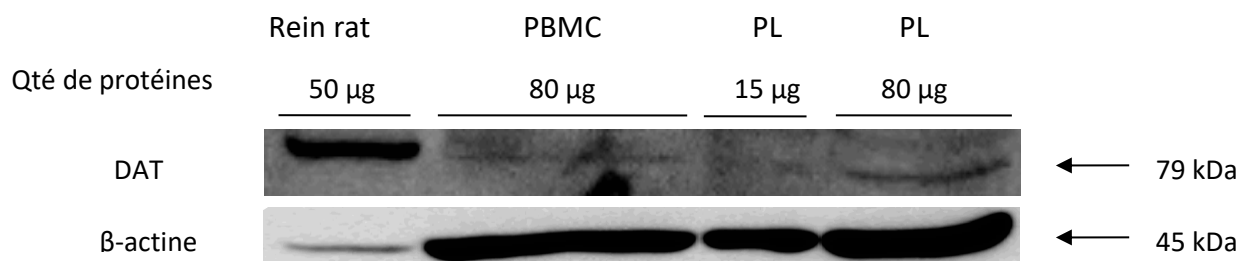
- mechanisms revealed from preclinical to clinical evidence. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 110, 110289. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110289>
- Wang, X. Q., Cai, H. H., Deng, Q. W., Chang, Y. Z., Peng, Y. P., & Qiu, Y. H. (2023). Dopamine D2 receptor on CD4⁺ T cells is protective against inflammatory responses and signs in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*, 25(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s13075-023-03071-1>
- Werle, E., Fischer, H. P., Müller, A., Fiehn, W., & Eich, W. (2001). Antibodies against serotonin have no diagnostic relevance in patients with fibromyalgia syndrome. *The Journal of rheumatology*, 28(3), 595–600.
- Wiffen, P. J., Derry, S., Moore, R. A., Aldington, D., Cole, P., Rice, A. S., Lunn, M. P., Hamunen, K., Haanpaa, M., & Kalso, E. A. (2013). Antiepileptic drugs for neuropathic pain and fibromyalgia - an overview of Cochrane reviews. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2013(11), CD010567. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010567.pub2>
- Wood P. B. (2008). Role of central dopamine in pain and analgesia. *Expert review of neurotherapeutics*, 8(5), 781–797. <https://doi.org/10.1586/14737175.8.5.781>
- Wood, P. B., Holman, A. J., & Jones, K. D. (2007). Novel pharmacotherapy for fibromyalgia. *Expert opinion on investigational drugs*, 16(6), 829–841. <https://doi.org/10.1517/13543784.16.6.829>
- Wood, P. B., Patterson, J. C., 2nd, Sunderland, J. J., Tainter, K. H., Glabus, M. F., & Lilien, D. L. (2007). Reduced presynaptic dopamine activity in fibromyalgia syndrome demonstrated with positron emission tomography: a pilot study. *The journal of pain*, 8(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2006.05.014>
- Wood, P. B., Schweinhardt, P., Jaeger, E., Dagher, A., Hakyemez, H., Rabiner, E. A., Bushnell, M. C., & Chizh, B. A. (2007). Fibromyalgia patients show an abnormal dopamine response to pain. *The European journal of neuroscience*, 25(12), 3576–3582. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05623.x>
- Wu, C. K., Chin Chen, K., See Chen, P., Chiu, N. T., Yeh, T. L., Lee, I. H., & Yang, Y. K. (2013). No changes in striatal dopamine transporter in antidepressant-treated patients with major depression. *International clinical psychopharmacology*, 28(3), 141–144. <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e32835ebcd7>
- Xie, R., Xie, H., Krewski, D., & He, G. (2018). Plasma concentrations of neurotransmitters and postpartum depression. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban = Journal of Central South University. Medical sciences*, 43(3), 274–281. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2018.03.007>
- Yang, H., de Jong, J. W., Cerniauskas, I., Peck, J. R., Lim, B. K., Gong, H., Fields, H. L., & Lammel, S. (2021). Pain modulates dopamine neurons via a spinal-parabrachial-mesencephalic circuit. *Nature neuroscience*, 24(10), 1402–1413. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00903-8>
- Yeh, Y. W., Ho, P. S., Chen, C. Y., Kuo, S. C., Liang, C. S., Ma, K. H., Shiue, C. Y., Huang,

- W. S., Cheng, C. Y., Wang, T. Y., Lu, R. B., & Huang, S. Y. (2014). Incongruent reduction of serotonin transporter associated with suicide attempts in patients with major depressive disorder: a positron emission tomography study with 4-[18F]-ADAM. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 18(3), pyu065. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu065>
- Yeh, Y. W., Ho, P. S., Kuo, S. C., Chen, C. Y., Liang, C. S., Yen, C. H., Huang, C. C., Ma, K. H., Shiue, C. Y., Huang, W. S., Shyu, J. F., Wan, F. J., Lu, R. B., & Huang, S. Y. (2015). Disproportionate Reduction of Serotonin Transporter May Predict the Response and Adherence to Antidepressants in Patients with Major Depressive Disorder: A Positron Emission Tomography Study with 4-[18F]-ADAM. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 18(7), pyu120. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu120>
- Yunus, M. B., Dailey, J. W., Aldag, J. C., Masi, A. T., & Jobe, P. C. (1992). Plasma and urinary catecholamines in primary fibromyalgia: a controlled study. *The Journal of rheumatology*, 19(1), 95–97.
- Zhang, K., Zhu, Y., Zhu, Y., Wu, S., Liu, H., Zhang, W., Xu, C., Zhang, H., Hayashi, T., & Tian, M. (2016). Molecular, Functional, and Structural Imaging of Major Depressive Disorder. *Neuroscience bulletin*, 32(3), 273–285. <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0030-0>
- Zhu, J., & Reith, M. E. (2008). Role of the dopamine transporter in the action of psychostimulants, nicotine, and other drugs of abuse. *CNS & neurological disorders drug targets*, 7(5), 393–409. <https://doi.org/10.2174/187152708786927877>
- Zobel, A. W., Nickel, T., Sonntag, A., Uhr, M., Holsboer, F., & Ising, M. (2001). Cortisol response in the combined dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression. a prospective study. *Journal of psychiatric research*, 35(2), 83–94. [https://doi.org/10.1016/s0022-3956\(01\)00013-9](https://doi.org/10.1016/s0022-3956(01)00013-9)
- Zwolińska, W., Dmitrzak-Węglarz, M., & Słopeń, A. (2023). Biomarkers in Child and Adolescent Depression. *Child psychiatry and human development*, 54(1), 266–281. <https://doi.org/10.1007/s10578-021-01246-y>

Annexes



Annexe 1. Exemple d'un gel d'agarose (southern blot) effectué dans le but de démontrer la présence des produits d'amplification de l'ARNm du DAT. Le transcrit du DAT est amplifié par PCRq pour des échantillons provenant des PBMC et des plaquettes de deux VS comme indiqué et les produits de la PCRq sont chargés dans un gel d'agarose de concentration 2%.



Annexe 2. Démonstration de la présence du DAT au niveau des plaquettes. La protéine DAT provenant de lysats cellulaires de PBMC et de plaquettes (PL) est analysée par Western Blot. Les protéines extraites de rein de rat ont servi de contrôle positif pour l'expression du DAT.