

University of Groningen

Antidepressant use during pregnancy

Ramsteijn, Anouschka

DOI:
[10.33612/diss.133209609](https://doi.org/10.33612/diss.133209609)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
Ramsteijn, A. (2020). *Antidepressant use during pregnancy: Exploring novel (neuro)biological effects in rat mothers and offspring*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.133209609>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Appendix I

English summary

Background

The environment we are exposed to during the first stages of life influences our long-term health and happiness. The brain is especially sensitive to early environmental cues. In a complex interaction of genetic factors and other developing organ systems, the brain is effectively “programmed” during fetal- and early postnatal development, thereby shaping our personality and behavior later in life.

During fetal development, all environmental cues we receive come from or through our mother. Maternal health and lifestyle factors can translate into alteration of development, both positively and negatively. In some cases, it is not clear how a future mother can best approach health-related issues while pregnant. For example, the prevalence of major depressive disorder during pregnancy is quite high; estimates range from 5-15% for all pregnant women. Maternal depressive-like symptoms have the potential to harm the developing child. An estimated 2.5-5.5% of pregnant women are prescribed selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) antidepressants to treat depressive symptoms. SSRIs are considered relatively safe for the developing fetus, although their long-term effects remain largely unstudied. It is however known that the serotonin system in the brain – the target of SSRI antidepressants – plays a major role in brain development and maturation. This naturally poses the questions of whether there is in fact a risk to taking these drugs, specifically if they potentially interfere with development.

One way to better understand the potential long-term effects of maternal depressive-like symptoms and SSRI use during pregnancy are animal experiments. Laboratory rodent studies offer several benefits, for example the opportunity to examine the “pure” effect of SSRIs – without underlying mental health issues. In addition, it is possible to examine biological mechanisms related to long-term behavioral effects in rodents, because we can study their brain in detail. Advances in scientific knowledge and technologies now allow us to refine the studies in this field. Of particular interest are:

1. The separate and combined effects of maternal depressive-like symptoms and SSRI exposure. The use of animal models of maternal stress or depressive-like behavior shows promise in this regard.
2. Novel methods and mechanisms, such as microbiomics and transcriptomics. High throughput sequencing technologies allow for in-depth, untargeted analyses and the discovery of new pathways.
3. Sex differences: females are notoriously understudied in biology, and there are indications that male and female offspring might be differentially susceptible to maternal depressive-like symptoms and SSRI use.

4. Improving translatability of animal studies, for example by performing systematic reviews to gather all available evidence.

Aim

The aim of this PhD thesis was to examine potential mechanisms linking perinatal SSRI antidepressant exposure to long-term health outcomes, using a rat model of maternal depressive-like symptoms.

Approach

The work described in this thesis used a rodent model of depressive-like symptoms. All female Wistar rats in this model have a genetic vulnerability: they carry the heterozygous serotonin transporter (SERT) knockout genotype. We call them maternal vulnerability (MV) females. MV females exposed to stress early in life (sMV) develop a depressive-like phenotype later in life, while those exposed to control handling early in life (cMV) do not. We treated sMV and cMV females with the SSRI fluoxetine throughout pregnancy and lactation, and studied several biological processes both in the MV females, in fetal tissue, and in male and female offspring that might underlie any long-term effects.

Results

Behavior

Many rodent studies have already been performed on the effects of perinatal exposure to SSRIs on behavior later in life. In **Chapter 2**, we collected these studies and systematically analyzed all available data in order to obtain a reliable overview of the types of behavior that are affected by early SSRI exposure. Early SSRI exposure is associated with reduced activity and exploration behavior, a more passive stress-coping style, and less efficient sensory processing. A trend was found for higher anxiety. Many behaviors seem to be more strongly affected in males than in females. In addition, SSRI exposure in the early *postnatal* period (approximately equivalent to the human third trimester) is associated with the strongest effects. These effects resemble and complement correlational studies in humans, and therefore suggest that further research in rodents on how these long-term effects arise may prove worthwhile.

Microbiome

In recent years the communication between the gut (microbiome) and the brain, and in particular the role of serotonin, has garnered significant interest. We performed two studies on the gut microbiome; one in young animals with different SERT genotypes (**Chapter 3**), and one in MV females treated with SSRIs during pregnancy and lactation (**Chapter 4**).

In **Chapter 3**, we investigated whether lower SERT gene expression is associated with particular characteristics of the fecal microbiome in young male and female rats. We found that the microbiome composition of SERT^{-/-} animals, with a complete lack of SERT, was distinct from that of their SERT^{+/-} and SERT^{+/+} counterparts. The microbiome of SERT^{-/-} animals also seems to be

sensitive to the effects of early life stress, since the combination of this genotype and early life stress produced an “inflammatory-type” microbiome.

Then, in **Chapter 4**, we explored the association between the sMV phenotype and SSRI administration during the perinatal period and features of the maternal microbiome and the availability of fecal metabolites. As expected, the microbiome and fecal concentrations of amino acids, bile acids and short-chain fatty acids changed dramatically from pregnancy to lactation in all females. Key features of this transition from pregnancy to lactation were altered in females that received SSRI treatment, especially in sMV females. For example, they showed higher relative abundance of *Prevotella* and *Bacteroides* microbial DNA, which was associated with lower fecal amino acid concentrations. It is known that microbial metabolites contribute to homeostasis and development. Therefore, alterations to the microbiome by SSRIs might have health consequences for the mother and her offspring.

Molecular mechanisms

Next, we continued to look at molecular alterations present in offspring that might underlie the long-term effects of maternal depression-like symptoms and SSRI treatment during pregnancy. In **Chapter 5**, we investigated gene expression in the placenta, which is a complex endocrine organ with a key role of providing the developing fetus with nutrients during gestation. The placenta has also been suggested to be involved in mediating the effects of maternal stress on offspring development, and it is sensitive to changes in serotonin levels. We measured gene expression levels of several categories of genes that were previously found to be altered in human placentas, in order to see if we could reproduce this in our rat studies: stress- and serotonin-related genes, neurogenesis-related genes, signal transduction-related genes and angiogenesis-related genes. Maternal adversity was associated with a reduced expression of *Mapk1*, a signal transduction gene. Besides this gene, we did not find any differences in gene expression between placentas as a result of sMV phenotype or SSRI administration. This disparity between human and rodent data may be interesting to explore further.

In **Chapter 6** we used whole-genome transcriptomics to explore differences in gene expression in the prefrontal cortex (PFC) and basolateral amygdala (BLA) of the brain of male and female juvenile rats exposed to maternal depressive-like symptoms and/or SSRI administration. We found that perinatal SSRI exposure is associated with *increased* myelin-related gene expression in the PFC, but *decreased* myelin-related gene expression in the BLA. We speculate that this reflects an altered pattern of brain maturation. In line with the behavioral data described in **Chapter 2**, this effect was more pronounced in males than females. Gene expression of several key genes such as myelin-associated glycoprotein (*Mag*) and myelin basic protein (*Mbp*) was correlated to DNA methylation at their promoter sites, indicating that epigenetic regulation of these genes might play a role.

Conclusion

In **Chapter 7**, all results in this thesis are discussed and placed in a broader context. The work presented in this thesis indicates that a) changes in the maternal microbiome and metabolic output

and b) changes in the transcriptomic state in the developing offspring brain could be mediating the long-term behavioral effects of exposure to maternal depression and antidepressant use during pregnancy. The results have the potential to inform the design of future animal- and human research in this field. Sex-specific effects, white matter development and brain maturation, and the role of the maternal microbiome emerge as the most relevant areas of focus for future study. Our hope is that this research, by means of shaping future animal and human studies, will help improve clinical decisions around perinatal mood disorders, as well as help mitigate the potential adverse effects of treatment (or lack thereof) of both mothers and children.

Appendix II

Nederlandse samenvatting

Achtergrond

De omgeving waaraan we worden blootgesteld gedurende de eerste periode van het leven beïnvloedt onze latere gezondheid en ons geluk. Het ontwikkelende brein is in het bijzonder gevoelig voor signalen uit de omgeving. In een complex samenspel met genetische factoren en andere zich ontwikkelende orgaansystemen, wordt het brein “geprogrammeerd” tijdens de foetale- en vroege postnatale ontwikkeling. Hierbij wordt onze toekomstige persoonlijkheid en ons gedrag voor een deel vormgegeven.

In de baarmoeder komen alle signalen die we ontvangen uit de omgeving van- of via onze moeder. De gezondheid en leefwijze van de moeder kan dus invloed hebben op het verloop van de ontwikkeling van de foetus, zowel positief als negatief. In sommige gevallen is het niet duidelijk hoe een vrouw in verwachting het beste om kan gaan met gezondheidskwesties. Het is bijvoorbeeld bekend dat veel zwangere vrouwen voldoen aan de diagnose van depressie; schattingen hiervan liggen tussen de 5-15% van alle zwangere vrouwen. Maternale depressieve symptomen kunnen schadelijk zijn voor het ontwikkelende kind. Het wordt geschat dat 2.5-5.5% van de zwangere vrouwen selectieve serotonine heropname remmers (*selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRI's) krijgen voorgeschreven om deze symptomen te behandelen. SSRI's worden gezien als vrij veilig voor de foetus in ontwikkeling, maar hun lange termijn-effecten zijn grotendeels onbekend. Het is wel bekend dat het serotonine systeem in de hersenen – waar SSRI's op aangrijpen – een grote rol speelt in de ontwikkeling en rijping van de hersenen. Hierdoor is het een vanzelfsprekende vraag of er inderdaad risico's kleven aan het gebruik van SSRI's.

Dierexperimenten zijn één manier om de potentiële lange termijn-effecten van maternale depressieve symptomen en SSRI-gebruik tijdens de zwangerschap beter te begrijpen. Knaagdierstudies in het laboratorium hebben verschillende voordelen, bijvoorbeeld dat het mogelijk is om het “pure” effect van SSRI's te bestuderen – dus zonder de onderliggende geestelijke gezondheidsproblemen. Daarnaast is het mogelijk om de biologische mechanismen te onderzoeken die ten grondslag liggen aan de lange termijn-effecten op gedrag, omdat we het brein van knaagdieren tot in detail kunnen bestuderen. De vooruitgang in wetenschappelijke kennis en technologieën laat het toe dat we studies in dit onderzoeksgebied verder verfijnen. Een aantal richtingen zijn in het bijzonder interessant:

1. De afzonderlijke en gecombineerde effecten van maternale depressief-achtige symptomen en blootstelling aan SSRI's. Het gebruik van diermodellen van maternale stress of depressief-achtig gedrag zijn veelbelovend voor dit doeleinde.

2. Nieuwe methoden en mechanismen, zoals het bestuderen van het microbioom en transcriptoom. *High throughput sequencing* technologieën laten diepgravende, hypothesegenererende analyses toe, zodat we nieuwe processen kunnen ontdekken.
3. Sekseverschillen: welbekend in de biologie worden vrouwtjes minder bestudeerd dan mannetjes. Dit terwijl er aanwijzingen zijn dat mannelijke en vrouwelijke nakomelingen niet op dezelfde manier vatbaar zijn voor de effecten van maternale depressieve symptomen en SSRI-gebruik.
4. Het verbeteren van de toepasbaarheid van dierstudies, bijvoorbeeld door het uitvoeren van systematische reviews om alle beschikbare data te bundelen.

Doel

Het doel van dit proefschrift was om de potentiële mechanismen te bestuderen die ten grondslag liggen aan de lange termijneffecten van perinatale blootstelling aan SSRI antidepressiva, gebruik makend van een ratmodel van maternale depressief-achtige symptomen.

Benadering

De studies beschreven in dit proefschrift maken gebruik van een knaagdier model van depressief-achtige symptomen. Alle vrouwelijke Wistar ratten in dit model hebben een genetische kwetsbaarheid: ze zijn drager van het heterozygote serotonine transporter (SERT) knock-out genotype. Wij noemen hen maternale kwetsbaarheid (*maternal vulnerability*, MV) vrouwtjes. MV-vrouwtjes die vroeg in het leven blootgesteld worden aan stress (sMV) ontwikkelen een depressief-achtig fenotype, maar vrouwtjes die worden blootgesteld aan de controlebehandeling (cMV) niet. We behandelden sMV en cMV vrouwtjes met de SSRI fluoxetine gedurende de zwangerschap en lactatie. Daarna bestudeerden we verschillende biologische processen die een rol kunnen spelen in het overdragen van lange termijneffecten in de MV-vrouwtjes, in foetaal weefsel, en in mannelijke- en vrouwelijke nakomelingen.

Resultaten

Gedrag

Er zijn al veel knaagdierstudies uitgevoerd met als doel het in kaart brengen van de effecten van perinatale blootstelling aan SSRI's op het gedrag later in het leven. In **Hoofdstuk 2** hebben we deze studies verzameld en systematisch alle data geanalyseerd om zo tot een betrouwbaar overzicht te komen van de gedragscategorieën die beïnvloed worden door vroege blootstelling aan SSRI's. Blootstelling aan SSRI's tijdens de ontwikkeling is geassocieerd met verminderde activiteit en exploratief gedrag, een passievere manier om met stress om te gaan, en minder efficiënte integratie van zintuiglijke informatie. Ook vonden we een trend voor meer angstig gedrag. Veel van deze gedragingen lijken sterker aangetast in mannetjes dan in vrouwtjes. Daarnaast is blootstelling aan SSRI's in de vroege *postnatale* periode (ongeveer gelijk aan het derde trimester in mensen) geassocieerd met de sterkste effecten. Deze effecten vertonen parallellen met onderzoek in mensen

en geven ons ook extra inzichten. Daarom kunnen we hieruit concluderen dat verder onderzoek in knaagdieren naar hoe deze lange termijneffecten kunnen ontstaan waardevol kan zijn.

Microbioom

De afgelopen jaren krijgt de communicatie tussen de darmen en het microbioom aan de ene kant, en het brein aan de andere kant steeds meer de aandacht, en in het bijzonder de rol die serotonine hierin speelt. Wij hebben twee studies uitgevoerd naar het microbioom van de darmen; één in jonge dieren met verschillende SERT genotypes (**Hoofdstuk 3**), en één in MV-vrouwtjes die behandeld zijn met SSRI's tijdens de zwangerschap en lactatie (**Hoofdstuk 4**).

In **Hoofdstuk 3** hebben we onderzocht of lagere SERT genexpressie gelinkt kan worden aan bepaalde kenmerken van het fecale microbioom in jonge mannetjes- en vrouwtjesratten. We vonden dat de compositie van het microbioom van SERT^{-/-} dieren, die géén SERT hebben, anders was dan de compositie van het microbioom van SERT^{+/-} en SERT^{+/+} dieren. Het microbioom van SERT^{-/-} ratten lijkt ook gevoelig te zijn voor de effecten van stress vroeg in het leven, want de combinatie van dit genotype en vroege stress leidde tot een “ontstekings-achtig” microbioom.

Vervolgens hebben we in **Hoofdstuk 4** de relatie onderzocht tussen het sMV fenotype en SSRI-behandeling tijdens de perinatale periode aan de ene kant, en kenmerken van het maternale microbioom en de aanwezigheid van fecale metabolieten aan de andere kant. Zoals verwacht veranderde het microbioom en fecale concentraties van aminozuren, galzuren, en kortketenige vetzuren (*short-chain fatty acids*) aanzienlijk als de zwangerschap overgaat naar de lactatie. Belangrijke kenmerken van deze overgang waren anders in vrouwtjes die SSRI-behandeling ondergingen, in het bijzonder in sMV vrouwtjes. Zij lieten bijvoorbeeld een hogere relatieve hoeveelheid *Prevotella*- en *Bacteroides* microbiële DNA zien, wat gecorreleerd was aan een lager gehalte van bepaalde fecale aminozuren. Het is bekend dat microbiële metabolieten bijdragen aan homeostase en ontwikkeling. Daarom is het mogelijk dat veranderingen in het microbioom door SSRI's gevolgen kunnen hebben voor de gezondheid van de moeder en haar nakomelingen.

Moleculaire mechanismen

Naast het microbioom hebben we gekeken naar de moleculaire verschillen in de nakomelingen die mogelijk een rol spelen bij de lange termijneffecten van maternale depressief-achtige symptomen en SSRI-behandeling tijdens de zwangerschap. In **Hoofdstuk 5** hebben we mogelijke verschillen in genexpressie onderzocht in de placenta, een complex endocrien orgaan met de belangrijke taak om de foetus te voorzien van voedingsstoffen. Het vermoeden bestaat dat de placenta een rol speelt in de effecten van maternale stress op de ontwikkeling van de nakomelingen. Verder is het bekend dat de placenta gevoelig is voor veranderingen in serotonine gehalte. We hebben de genexpressie gemeten van verschillende categorieën genen die voorheen verschillen lieten zien in humane placenta's, om te zien of deze resultaten in ratten gereproduceerd konden worden. Het betrof genen gerelateerd aan: stress- en serotonine, neurogenese, signaaltransductie en angiogenese. Los van een verschil in één van de signaaltransductie genen, *Mapk1*, welke verlaagd werd door maternale stress, hebben we geen verschillen gevonden in genexpressie tussen placenta's als gevolg van het sMV

fenotype of behandeling met SSRI's. Dit verschil tussen humaan- en knaagdier data is wellicht interessant om verder te verkennen.

In **Hoofdstuk 6** hebben we RNA *sequencing* toegepast om verschillen in genexpressie te verkennen in de prefrontale cortex (PFC) en basolaterale amygdala (BLA) van de hersenen van mannelijke- en vrouwelijke jonge ratten die blootgesteld waren aan maternale depressief-achtige symptomen en/of SSRI's. We vonden dat perinatale blootstelling aan SSRI's is gelinkt aan *hogere* myeline-gerelateerde genexpressie in de PFC, maar *lagere* myeline-gerelateerde genexpressie in de BLA. We speculeren dat dit een reflectie is van een ander verloop van de rijping van het brein. Overeenkomstig met de gedragsdata uit **Hoofdstuk 2** was dit effect duidelijker aanwezig in mannetjes dan in vrouwtjes. Genexpressie van verscheidene genen zoals myeline-gebonden glycoproteïne (*myelin-associated glycoprotein, Mag*) en myeline basisch eiwit (*myelin basic protein, Mbp*) was gecorreleerd aan DNA methylatie rond de promotor van het gen. Dit is een aanwijzing dat epigenetische regulatie van deze genen een rol kan spelen.

Conclusie

In **hoofdstuk 7** worden alle resultaten van dit proefschrift besproken en in een bredere context geplaatst. Het werk wat in dit proefschrift wordt gepresenteerd geeft aanwijzingen voor een rol van a) veranderingen in het maternale microbioom en metabole producten en b) veranderingen in het patroon van genexpressie in de nakomelingen tijdens de ontwikkeling in het ontstaan van effecten op gedragsniveau na blootstelling aan maternale depressie en antidepressiva gebruik tijdens de zwangerschap. De resultaten kunnen de opzet van toekomstige dier- en mens studies in dit veld helpen vormen. De belangrijkste focusgebieden voor toekomstige studies zijn sekse-specifieke effecten, de ontwikkeling van de witte stof, en de rol van het maternale microbioom. We hopen dat dit onderzoek, door toekomstige studies te helpen vormgeven, zal bijdragen aan het verbeteren van de klinische besluitvorming rond perinatale stemmingsstoornissen, en daarbij zal bijdragen aan het tegengaan van de mogelijke negatieve gevolgen van de behandeling (of het gebrek aan behandeling) van moeders en kinderen.

Appendix III

Dankwoord

Hoewel het schrijven van een proefschrift misschien best eenzaam kan lijken, was het in mijn ervaring juist een hele sociale periode, en daar ben ik blij om! Ik heb een ongelofelijk leerzame, stimulerende en gezellige tijd gehad de afgelopen 4 (inmiddels 5) jaar. Daar wil ik een aantal mensen persoonlijk voor bedanken. Te beginnen met mijn (co)promotors:

Jocelien, ik was pas jouw tweede PhD student. Ik was zó blij toen je me de positie had aangeboden; het onderwerp en de technieken paste perfect bij wat ik wilde, en jouw enthousiasme werkte aanstekelijk. Nu ik terugkijk ben ik zo mogelijk nóg dankbaarder dat jij mijn begeleider was. Ik waardeerde het heel erg dat je open stond voor nieuwe ideeën, maar tegelijkertijd knopen kon doorhakken als het nodig was. Je bent stressbestendig, benaderbaar, en altijd sociaal, vrolijk en geduldig. Eigenlijk snap ik niet hoe je het doet, met ook een druk privéleven erbij. Bedankt voor alles!!

Gertjan en **Sietse**, jullie wetenschappelijke en praktische input en nuchtere noordelijke blik op de zaken was altijd welkom. Bedankt voor de ondersteuning.

I would like to thank the reading committee: **Prof. dr. Marianne Rots**, **Prof. dr. Aletta Kraneveld**, and **Prof. dr. Inger Sundström Poromaa**, for taking the time to assess this thesis.

Tijdens mijn PhD heb ik het plezier gehad om met veel mensen binnen en buiten Groningen samen te kunnen werken. **Danielle**, jij was de andere PhD student op dit project, en vooral verantwoordelijk voor het gedragswerk. Je bent betrouwbaar en georganiseerd en ik heb daardoor altijd heel prettig met je samengewerkt, bedankt hiervoor! Dan, op volgorde van hoofdstuk:

Hoofdstuk 2: De systematische review en meta-analyse hebben we uitgevoerd samen met onderzoekers van de Radbouduniversiteit Nijmegen. **Judith Homberg**, bedankt dat je ons hebt aangeboden samen te werken op dit project. **Juliette** en **Lisa** hadden al de bulk van het zoekwerk gedaan en alles zo goed gedocumenteerd dat de overname heel soepel ging, dank hiervoor. **Judith van Luijk** en collega's, bedankt voor de praktische ondersteuning vanuit SYRCLE.

Chapter 3: This chapter was a collaboration with the Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute (GBB) and Genomics Research in Ecology and Evolution in Nature (GREEN). Thank you **Sahar**, **Francesco**, and **Joana** for using your microbiome magic on our rat poop ;).

Chapter 4: This chapter was a collaboration with Tracy Bale's lab. **Tracy**, thank you so much for hosting me for 6 months. I admire your innovative research and your scientific mindset, and I feel so lucky to have been able to learn from you first-hand about scientific storytelling and all things stress and pregnancy. Thank you for joining the Dutch Neuroscience Meeting 2019 as well, it was fabulous to have you as the keynote speaker! Then, of course, **Eldin**: thank you so much for "adopting" me scientifically (at least, that's how I experienced it) during and also after this time. You have not only taught me so many practical skills in generating and analyzing -omics datasets, but you have also shared your experiences and thoughts regarding shaping a scientific career. I value your mentorship a lot! Also a huge thank you to the rest of the lab, who made me feel so welcome at UPenn: **Chris, Jen, Jess, Katie, Bridget, and Carly**.

Chapter 5: Naturally, we wanted GELIFES' newest placenta expert **Mick** to be involved in this project. Thank you for showing us proper placenta dissection, and for advising us along the way. Also a big thank you to **Romy** for a lot of lab work. I'm a huge fan of your microchimerism PhD project, can't wait to see what you'll find!

Hoofdstuk 6: Al het werk wat betreft de DNA methylatie hebben we samen met collega's bij de Department of Obstetrics and Gynecology in het UMCG gedaan. **Torsten**, bedankt voor deze hele leuke samenwerking. **Rikst Nynke** heeft me al die tijd kundig bijgestaan op het lab, wat ook nog eens heel gezellig was, bedankt hiervoor!

Naast de wetenschappelijke samenwerking waren het de naaste collega's op de GELIFES Neurobiologie afdeling die mijn PhD periode tot een hele fijne tijd maakten:

Bij NEUBI werken geweldige, toegewijde analisten en ander ondersteunend personeel. In het bijzonder wil ik de volgende mensen bedanken: **Wanda**, jij bent de "lijm" van de afdeling, altijd in voor een praatje (of lang verhaal), altijd bereid om te helpen en altijd geduldig. Je stond onder mijn sneltoets voor Trizol-gerelateerde ongevallen, en dat is maar goed ook.. Ook bedankt voor al het pipetteer-werk voor het placenta project! **Roel**, jij was altijd beschikbaar voor betrouwbare moleculairbiologische troubleshooting. Bedankt ook voor je positieve energie en je humor! Ook veel dank aan **Kunja, Christa, Jan B., Jan K., en Roy. Pleunie**, bedankt voor alle ondersteuning vanuit het secretariaat. De diervverzorgers, met name **Saskia**: dank voor de goede zorgen voor de SERT ratten.

De andere professoren op de afdeling wil ik ook bedanken voor het creëren van een collegiale, open sfeer: **Anton, Bauke, Martien en Robbert**. En **Peter**, bedankt voor het doorsturen van de vacature voor deze positie, 5½ jaar geleden!

Ik heb ook met veel plezier bachelor- en masterstudenten begeleid. In het bijzonder wil ik **Iris en Sarina** bedanken voor jullie toewijding en harde werk. Ik hoop dat jullie net zoveel van mij hebben geleerd als ik van jullie.

Then **Room 0258**, what can I say...? Actually I don't understand how we still got work done in between the crazy conversations and discussions, business ideas, wine and pizza. I already miss you

guys! In alphabetical order, like a mother is not supposed to pick favorites among her children: **Betty** (looks considerate but loves to wreak havoc), **Danielle** (looks stable but cries when laughing), **Deepika** (looks serious but just wait ‘till the Latin music comes on), **Diana** (looks sweet but cannot be messed with), **Giorgio** (looks quiet but is competitive), **Kevin** (officially the best coworker – I think he has an award), **Laura** (gas on the fire regarding all controversial conversation topics), **Maria** (Italian temperament!), **Mila** (loves cats and diet coke even more than I do), **Niels** (the crazy started after you arrived – correlation or causation?), **Nur** (the first one, and our link to the underground Indonesian food service), **Kristina** (adapted to the crazy really quickly!), **Steffen** (the loudest person outside of Curaçao), and **Warner** (secretly already finished 2 PhDs). Also a big thanks to the PhDers and Postdocs from the 3rd (sorry for the noise pollution) and 4th floor, you are also cool. Special mention for **Frank** (still don’t know when to take you seriously) and **Marelle** (same).

Buiten alle PhD-gerelateerde activiteiten was er natuurlijk ook tijd voor weekendjes, etentjes, en andersoortig vertier. Ik ben heel erg dankbaar voor alle mensen waar ik al zo lang lief en leed mee kan delen. Bedankt voor jullie geduld, en voor het vele reizen naar Groningen en Zwolle (nog steeds wel een beetje het einde van de wereld). Een paar mensen licht ik er in het bijzonder uit:

Lisa en **Masha**, jullie zijn TOP vriendinnen: lief, grappig, slim, en ondernemend. Ik begin me echt oud te voelen als ik terugdenk aan alle dingen die wij samen hebben meegemaakt ;). Geweldig dat jullie mijn paranimfen (aka Paramürmels) zijn.

Lieve **papa** en **mama**, bedankt dat ik altijd bij jullie terecht kan voor gezelligheid, advies, of gewoon even kletsen. Ik ben jullie dankbaar voor al jullie vertrouwen en steun. En natuurlijk ook voor de *last minute* proefschrift omslag en foto bijdragen! En **Maxim**, ik ben heel erg blij met jou als broer(tje), ik ben trots op je!

Alec, our journey started just before my PhD project. And while my research culminated in this thesis, our relationship brought us a “fur baby”! I think we agree that raising a Greyhound puppy (aka landshark) is a way bigger challenge than completing a PhD. But at least we finally found *practical* use for all that knowledge on animal behavior. Thank you for creating the sweetest human/feline/canine family with me. Oh yeah: thanks for proofreading/editing all my writing (except for this paragraph – hope it’s not terrible). I can’t wait to see where life will take us next! Never boring <3.

Appendix IV

Short resume



Anouschka Sophie Ramsteijn

- 2015 - 2020 **PhD Neurobiology** University of Groningen
Advisors: Dr. Jocelien Olivier, Dr. Gertjan van Dijk, Dr. Sietse de Boer
- 2017 **Fulbright Scholar** University of Pennsylvania, USA
Advisors: Dr. Tracy Bale, Dr. Eldin Jašarević
- 2013 - 2015 **MSc (Hons, *Cum Laude*) Behavioral and Cognitive Neurosciences** University of Groningen
- 2015 **Major thesis** McGill University, Canada
Advisors: Dr. Michael Meaney, Dr. Carine Parent
- 2014 **Minor thesis** University of Groningen
Advisor: Dr. Peter Meerlo
- 2009 - 2012 **BSc (Hons, *Cum Laude*) Liberal Arts and Sciences** University College Utrecht
Tracks: Cognitive neuroscience, Cell biology, Psychology, Philosophy
- 2012 **Research intern** TNO (Applied Scientific Research) Behavioral and Societal Sciences, Soesterberg
Advisor: Dr. Anne-Marie Brouwer
- 2011 **Exchange student** University of Adelaide, Australia

Appendix V

Publications

As first author

- Ramsteijn, A. S., Van de Wijer, L., Rando, J., van Luijk, J., Homberg, J. R., & Olivier, J. D. (2020). Perinatal selective serotonin reuptake inhibitor exposure and behavioral outcomes: a systematic review and meta-analyses of animal studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*.
- Ramsteijn, A. S., Jašarević, E., Houwing, D. J., Bale, T. L., & Olivier, J. D. (2020). Antidepressant treatment with fluoxetine during pregnancy and lactation modulates the gut microbiome and metabolome in a rat model relevant to depression. *Gut Microbes*, 1-19.
- Ramsteijn, A.S., Verkaik-Schakel, R.N., Houwing, D.J., Plösch, T., & Olivier, J.D.A. (*Manuscript submitted*). Perinatal exposure to fluoxetine and maternal adversity affect myelin-related gene expression and epigenetic regulation in the corticolimbic circuit of juvenile rats. Preprint: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.07.26.221648v1>
- Ramsteijn, A.S., Smit, J.R., Abrahams, S.H.M., Douwenga, W., Houwing, D.J., Elliot, M.G., & Olivier, J.D.A. (*Manuscript in preparation*). The effect of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants and maternal adversity on gene expression in the placenta.

As co-author

- Houwing, D. J., de Waard, J., **Ramsteijn, A. S.**, Woelders, T., de Boer, S. F., Wams, E. J., & Olivier, J.D. (2020). Perinatal fluoxetine exposure disrupts the circadian response to a phase shifting challenge in female rats. *Psychopharmacology*, 1-14.
- Houwing, D. J., Esquivel-Franco, D. C., **Ramsteijn, A. S.**, Schuttel, K., Struik, E. L., Arling, C., ... & Olivier, J. D. (2020). Perinatal fluoxetine treatment and dams' early life stress history have opposite effects on aggressive behavior while having little impact on sexual behavior of male rat offspring. *Psychopharmacology*, 1-12.
- Houwing, D. J., Schuttel, K., Struik, E. L., Arling, C., **Ramsteijn, A. S.**, Heinla, I., & Olivier, J. D. (2020). Perinatal fluoxetine treatment and dams' early life stress history alter affective behavior in rat offspring depending on serotonin transporter genotype and sex. *Behavioural Brain Research*, 112657.
- Houwing, D. J., Staal, L., Swart, J. M., **Ramsteijn, A. S.**, Wöhr, M., de Boer, S. F., & Olivier, J. D. (2019). Subjecting dams to early life stress and perinatal fluoxetine treatment differentially alters social behavior in young and adult rat offspring. *Frontiers in neuroscience*, 13, 229.

- Houwing, D. J., **Ramsteijn, A. S.**, Riemersma, I. W., & Olivier, J. D. A. (2019). Maternal separation induces anhedonia in Female heterozygous serotonin transporter knockout rats. *Behavioural brain research*, 356, 204-207.
- El Aidy, S., **Ramsteijn, A. S.**, Dini-Andreote, F., van Eijk, R., Houwing, D. J., Salles, J. F., & Olivier, J. D. (2017). Serotonin transporter genotype modulates the gut microbiota composition in young rats, an effect augmented by early life stress. *Frontiers in cellular neuroscience*, 11, 222.