

Polimorfisme Gen γ -Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit α -6 (GABRA6) dan Gangguan Kecemasan

Melisa I. Barliana¹, Carissa P. Purabaya¹, Sri A. F. Kusuma¹, Rizky Abdulah²

¹Departemen Biologi Farmasi, Laboratorium Bioteknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Laboratorium Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

Abstrak

Gangguan kecemasan sering terjadi karena pengaruh lingkungan dan juga dipengaruhi oleh variasi genetik. *Gamma-aminobutyric acid type A receptors Subunit α -6* (GABRA6) adalah reseptor dari *Gamma-aminobutyric acid type A* (GABA). *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) gen GABRA6 pada posisi rs3219151 (T1521C) mempengaruhi respon seseorang terhadap stres. Tujuan penelitian ini adalah identifikasi genotipe gen GABRA6 pada populasi di Kota Bandung serta korelasinya dengan kondisi stres. Penelitian dilakukan terhadap 112 responden yang mengisi kuesioner *The Kessler Psychological Distress Scale* (K10) untuk melihat kondisi stres. Sampel darah diambil untuk identifikasi variasi gen GABRA6 dan dianalisis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Refractory Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) dengan enzim restriksi *AlwN1*. Hasil identifikasi gen GABRA6 menunjukkan bahwa sebesar 84 responden (75%) memiliki genotipe CC, 14 responden (12,5%) memiliki genotipe CT, dan 14 responden (12,5%) lainnya memiliki genotipe TT. Meskipun mayoritas responden memiliki genotipe CC, namun data genotipe tidak memenuhi asas kesetimbangan Hardy-Weinberg serta tidak ada korelasi antara variasi gen GABRA6 dengan kondisi stres yang menggunakan analisis *bivariate* (*Chi-Square*).

Kata Kunci: GABRA6, Gangguan Kecemasan, Indonesia, PCR-RFLP, SNP

γ -Aminobutyric Acid Type A Receptor Subunit α -6 (GABRA6) Gene Polymorphism and Anxiety Disorder

Abstract

Anxiety disorder caused by environmental factor and individual genetic variations. *Gamma-aminobutyric acid type A receptors Subunit α -6* (GABRA6) is γ -aminobutyric acid type A (GABA) receptor. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) of GABRA6 gene at rs3219151 (T1521C) affected individual response of stress. The aim of present study was to identify GABRA6 genotype variations in Bandung city population and its correlation with stress condition. Samples were collected from 112 respondents who filled *The Kessler Psychological Distress Scale* (K10) questionnaire for stress condition. Blood samples were collected and identification of GABRA6 gene was analyzed using *Polymerase Chain Reaction-Refractory Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) by *AlwN1* restriction enzyme digestion. The result of present study showed that 84 respondents (75%) have CC genotype, 14 respondents (12.5%) have CT genotype, and other 14 respondents (12.5%) have TT genotype. Most of respondents have CC genotype but the data did not meet the Hardy-Weinberg equilibrium and showed no correlation between GABRA6 gene variations and stress condition using *bivariate analysis* (*Chi-Square*).

Keywords: Anxiety disorder, GABRA6, Indonesia, PCR-RFLP, SNP

Korespondensi: Melisa I. Barliana, Dr. Med. Sc., Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, *email:* melisa.barliana@unpad.ac.id

Naskah diterima: 8 April 2016, Diterima untuk diterbitkan: 1 Mei 2016, Diterbitkan: 1 Juni 2016

Pendahuluan

Kondisi gelisah ataupun kecemasan, yang merupakan suatu kondisi stres, adalah suatu respon adaptif pada situasi bahaya yang akan datang dan secara integral berhubungan dengan kemampuan suatu organisme untuk menghindari ancaman tersebut. Gangguan kecemasan (*anxiety disorder*) terbagi dalam beberapa kategori sindroma, yaitu *generalized anxiety disorder* (GAD), gangguan panik, dan fobia.¹ Gangguan kecemasan ini merupakan gangguan mental yang sering terjadi dan diperkirakan prevalensinya seumur hidup pada sekitar 28% dari populasi Kaukasia.²⁻⁴ Penyebab gangguan kecemasan sering terjadi karena beban berat seseorang terhadap faktor eksternal seperti masalah ekonomi. Selain karena masalah lingkungan, faktor risiko penyebab gangguan cemas juga dipengaruhi oleh variasi genetik seseorang.^{5,6}

Gamma-aminobutyric acid (GABA) merupakan *neurotransmitter* yang terlibat dalam kecenderungan rasa takut atau cemas, merupakan inhibitor utama dari *neurotransmitter* pada sistem syaraf pusat (SSP) mamalia dan regulator berbagai proses fisiologis dan psikologis. Efek inhibitori dari GABA dimediasi oleh reseptornya yaitu *Gamma-aminobutyric acid type A receptors* yang merupakan salah satu target obat-obatan gangguan kecemasan (*anxiolytics*) dan *benzodiazepine* bekerja sebagai suatu agonis reseptor ini untuk meningkatkan efisiensi efek inhibisi neurotransmisi GABAergic.⁷⁻¹⁰ Variasi respon GABA berkaitan dengan gangguan kecemasan (*anxiety disorder*) dan depresi.⁸ Modulasi respon stres melibatkan respon di level hipokampus dan hipotalamus serta regulasi melalui jalur neuronal, termasuk sistem inhibitori GABAergic.² Disfungsi modulasi sistem *neurotransmitter* GABA merupakan salah satu penyebab stres atau kondisi neuropsikiatrik, termasuk ke dalam gangguan cemas dan depresi.¹¹ GABA

menghambat HPA axis melalui reseptor GABA yang ekspresinya dipengaruhi oleh *corticotrophin-releasing hormone* (CRH) di neuron pada bagian *paraventricular nucleus* (PVN) di hipotalamus.¹²

Gamma-aminobutyric acid type A receptors adalah reseptor dari GABA yang mengandung subunit δ (δ GABA_A receptors). Reseptor ini terekspresi di berbagai tipe sel neuron di SSP yang menghasilkan hantaran ion yang membentuk eksitabilitas neuronal dan plastisitas sinaptik. Reseptor-reseptor ini berperan penting pada fungsi perilaku, termasuk memori, nosisepsi, kegelisahan, dan neurogenesis.¹³ Reseptor δ GABA_A memiliki beberapa subunit, yaitu α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , π , θ , ϵ , dan ρ 1-3.¹⁴ Reseptor δ GABA_A subunit α 6 (GABRA6) adalah salah satu faktor penyebab patologis gangguan kecemasan. Penelitian terdahulu membuktikan adanya relasi antara polimorfisme GABRA6 dengan karakter seseorang yang berhubungan dengan kegelisahan dan depresi (*neuroticism*).¹⁰ Variasi GABRA6 juga berkaitan dengan peningkatan produksi kortisol dan tekanan darah yang merupakan respon dari keadaan stres.¹⁵

Gen GABRA6 adalah gen yang mengkode protein GABRA6, dengan urutan basa TT (*wildtype*), dan terdapat di kromosom 5q34. Apabila terjadi mutasi pada satu basa atau *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada rs3219151 maka terjadi perubahan basa T menjadi C (T1521C) pada 3' *untranslated region*. Individu yang memiliki alel C *homozigot mutan* (CC) cenderung memiliki respon hormonal dan fisiologis yang menurun terhadap stres fisiologis akut. Individu dengan alel T (CT atau TT) menunjukkan peningkatan produksi kortisol yang berhubungan dengan meningkatnya keadaan stres.¹⁵ Fenotipe variasi gen GABRA6 dipengaruhi juga oleh perbedaan ras. Beberapa penelitian di ras Kaukasia, Afrika-Amerika, Asia, dan di Spanyol menunjukkan fenotip yang berbeda.^{7,15}

Tabel 1 Hasil Analisa K10

Tingkat Stres	Jumlah (%)
Baik	27,68
Ringan	35,71
Sedang	24,11
Berat	12,50
Total	100,00

Keterangan: Pengelompokan berdasarkan skor dari kuisioner:

Baik <20, Ringan : 20-24, Sedang : 25-29, Berat : ≥30

The Kessler Psychological Distress Scale (K10) adalah kuesioner yang terdiri dari 10 soal, dapat mengukur distres psikologis non-spesifik, dan dapat digunakan sebagai parameter sensitif terhadap keadaan gangguan jiwa (gangguan kecemasan dan gangguan mood).¹⁶ K10 banyak digunakan di berbagai kasus misalnya pada pasien kanker¹⁷, HIV¹⁸, dan Tuberkulosis.¹⁹ Hingga saat ini data genotipe gen-gen yang terlibat dalam kondisi stres pada orang Indonesia masih belum ada datanya. Oleh karena itu kami melakukan penelitian mengenai karakteristik genotipe gen GABRA6 yang dikaitkan dengan respon stres melalui hasil survey dengan metode *The Kessler Psychological Distress Scale* (K10).

Metode

Subjek

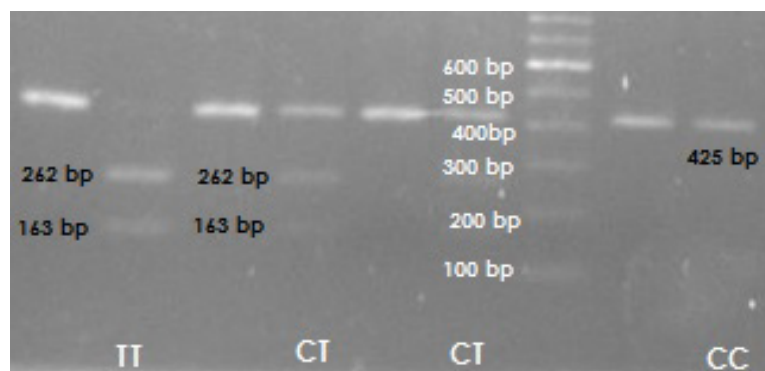
Penelitian ini merupakan studi eksperimental pada 112 responden sehat, laki-laki dan perempuan, serta berusia diatas 18 tahun yang telah menandatangani lembar persetujuan pasien (*informed consent*) di Kota Bandung. Penelitian ini juga telah mendapatkan izin etik yang dikeluarkan Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran dengan nomor: 727/UN6.C2.1.2/KEPK/PN.2014. Sampel uji berupa darah (*whole blood*) dari seluruh responden diambil dan disimpan pada suhu -80 °C hingga analisis dilakukan.

The Kessler Psychological Distress Scale (K10)

Responden mengisi kuesioner *The Kessler Psychological Distress Scale* (K10) yang telah diuji validitas dan realibilitasnya terhadap 30 responden yang berbeda. K10 terdiri dari 10 pertanyaan yang diisi oleh responden sesuai yang dialami selama 30 hari terakhir. Jawaban tersebut akan dinilai dengan skor 1 untuk jawaban tidak pernah, 2 untuk jawaban pernah/jarang, 3 untuk jawaban kadang-kadang, 4 untuk jawaban sering dan 5 untuk jawaban sering sekali/selalu. Skala pengukuran yang digunakan adalah skala ordinal dengan kategori: skor <20 tidak mengalami stres, 20–24 stres ringan, 25–29 stres sedang, skor 30 dan >30 stres berat.

Analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

SNP T1521C pada gen GABRA6 sesuai dengan informasi GenBank yang telah diregistrasi di pusat data *The National Center for Biotechnology Information* dengan rs3219151 (<http://www.ncbi.nih.gov>). Analisis SNP menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Refractory Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP). Isolasi DNA dilakukan pada sampel darah menggunakan *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit* (Invitrogen™). PCR dilakukan menggunakan 1.1x PCR *SuperMix* (Invitrogen™) yang terdiri dari campuran DNA polymerase, 66 mM Tris-SO₄ (pH 9.1 at 25 °C), 19.8 mM (NH₄)₂SO₄, 2.2 mM MgSO₄, 220 μM



Gambar 1 Hasil Elektroforesis Sampel dengan Metode PCR-RFLP. Berupa satu pita genotipe CC (425 pb), tiga pita genotipe CT (425 pb, 262pb, dan 163pb), dan dua pita genotipe TT (262pb, dan 163pb)

dGTP, 220 μ M dATP, 220 μ M dTTP, 220 μ M dCTP dan *stabilizers*. *Primer* spesifik untuk GABRA6 pada posisi SNP rs3219151 yang digunakan adalah *primer* forward 5'-GGAGGCACCAGTAAAATAGACCAG-3' dan *primer* reverse 5'-AATACTGAACAATGGAAGACAAAA-3' (Sigma Aldrich).²

Kondisi PCR R diawali dengan denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 5 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 94 °C selama 45 detik, penempelan (*annealing*) 52,2 °C selama 30 detik, dan pemanjangan (*extension*) 72 °C selama 30 detik, serta perpanjangan akhir 72 °C selama 10 menit. Produk PCR yang dihasilkan adalah berukuran 425pb. Fragmen PCR kemudian dipotong oleh enzim restriksi *AlwN1*, di inkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C, kemudian di inaktivasi dengan cara inkubasi pada suhu 65 °C selama 20 menit. Sampel yang memiliki genotipe CC (*wild type*) akan memiliki satu fragmen 425pb dan tidak akan terpotong oleh enzim restriksi *AlwN1*. Sedangkan sampel yang memiliki alel T (CT atau TT) akan terpotong oleh enzim restriksi menjadi fragmen berukuran 425pb, 262pb, dan 163pb untuk genotipe CT, serta 262pb dan 163pb untuk genotipe TT. Visualisasi hasil PCR dan pemotongan dengan enzim menggunakan pewarnaan

etidium bromida (USB) setelah elektroforesis pada gel agarosa 2%.

Analisis Statistika

Pengolahan data hasil kuesioner *The Kessler Psychological Distress Scale* (K10) menggunakan *software* SPSS. Frekuensi genotipe dianalisis menggunakan perhitungan kesetimbangan Hardy-Weinberg ($p < 0,05$). Korelasi antara hasil kuesioner dengan data genotipe menggunakan analisis *bivariate* (*Chi-Square*, $p < 0,05$). Analisis *Chi-Square* dipilih karena uji yang dilakukan merupakan uji non-parametrik yang digunakan untuk membandingkan data observasi dengan data yang diharapkan untuk menguji hipotesis.

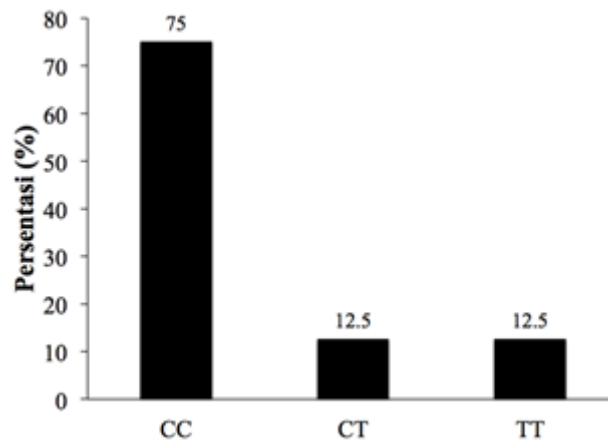
Hasil

Hasil analisis menggunakan K10

Pengujian tingkat stres dengan menggunakan K10 dilakukan terhadap 112 responden (Tabel 1). Hasil analisa tingkat stres menunjukkan tingkat stres kategori baik sebanyak 31 responden (27,68%), ringan sebanyak 40 responden (35,71%), sedang sebanyak 27 responden (24,11%) dan berat sebanyak 14 responden (12,5%).

Variasi genotipe gen GABRA6

Visualisasi fragmen DNA yang telah



Gambar 2 Frekuensi Genotipe Gen GABRA6. Genotipe CC teridentifikasi pada 84 responden (75%), CT pada 14 responden (12,5%), TT pada 14 responden (12,5%)

diampifikasi pada PCR menggunakan gel elektroforesis dan akan terbagi menjadi 3 genotipe, yaitu wild type CC (425pb), heterozigot CT (425pb, 262pb, dan 163pb), dan homozigot mutan TT (262pb, dan 163pb) (Gambar 1). Identifikasi SNP pada gen GABRA6 (rs3219151) yang dilakukan pada 112 sampel maka didapatkan dari identifikasi berupa genotipe *wildtype* CC sebanyak 84 responden (75%), heterozigot CT sebanyak 14 responden (12,5%), dan homozigot mutan TT sebanyak 14 responden (12,5%) (Gambar 2). Berdasarkan pengujian Kesetimbangan Hardy-Weinberg, data genotipe pada penelitian ini tidak memenuhi asas Kesetimbangan Hardy-Weinberg dengan $p < 0,05$.

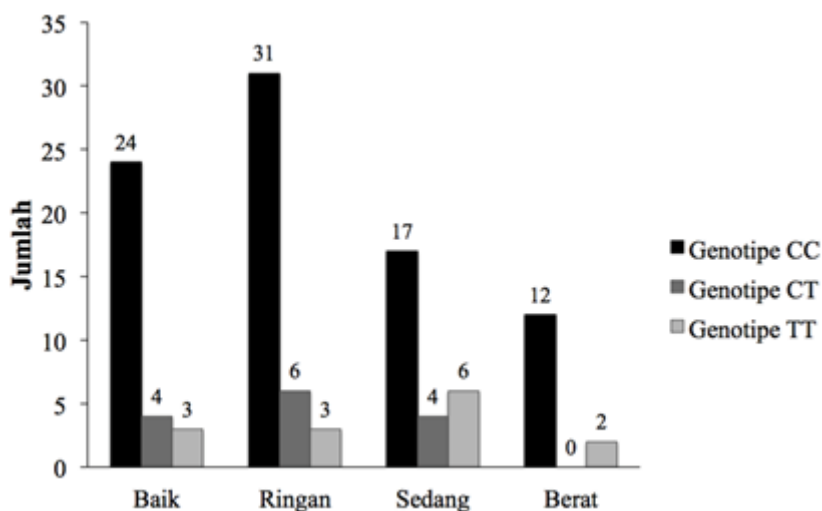
Korelasi distress psikologis dengan variasi genetik

Korelasi distress psikologis dengan variasi gen GABRA6 dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan analisis hasil K10, data responden dengan genotipe CC (84 responden) memiliki tingkatan stres yang bervariasi, yaitu sebanyak 24 responden (29%) tidak mengalami stres atau dalam keadaan baik, 31 responden (37%) stres ringan, 17 responden (20%) stres tingkat sedang, dan 12 responden

(14%) stres tingkat berat. Responden dengan genotipe CT juga memiliki tingkatan risiko stres yang berbeda-beda, yaitu sebanyak 4 responden (29%) tidak mengalami stres (baik), 6 responden (43%) dengan risiko stres tingkat ringan, dan 4 responden (28%) dengan risiko stres tingkat sedang, dan tidak ada responden pada genotipe ini yang mengalami stres tingkat berat. Sebanyak 14 responden memiliki genotipe TT yang terdiri dari 3 responden (21%) tidak mengalami stres (baik), 3 responden (22%) dengan risiko stres tingkat ringan, 6 responden (43%) dengan risiko stres tingkat sedang, dan 2 responden (14%) dengan risiko stres tingkat berat. Berdasarkan uji *Chi-Square* didapatkan $p = 0,430$ ($p > 0,05$), maka dapat diartikan bahwa polimorfisme genotipe gen GABRA6 tidak ada hubungan dengan kejadian atau risiko stres.

Pembahasan

The Kessler Psychological Distress Scale (K10) adalah kuesioner yang terdiri dari 10 pertanyaan untuk mengukur secara umum tingkat stres berdasarkan pertanyaan mengenai kecemasan dan gejala depresi yang dialami subjek dalam kurun waktu 30



Gambar 3 Korelasi Variasi Genotipe Gen GABRA6 dengan Kondisi Stres

hari terakhir. Kuesioner ini telah dilakukan uji validitas dan realibilitas terhadap 30 responden ($p < 0,05$). Uji validitas digunakan untuk menunjukkan kemampuan kuesioner dalam mengukur kadar stres responden sedangkan uji reabilitas digunakan untuk melihat kemampuan keterulangan dari kuesioner tersebut.

Frekuensi genotipe gen GABRA6 di beberapa negara menunjukkan bahwa populasi Afrika (*African-American*, suku Luhya di Kenya, suku Yoruba di Nigeria) sebesar 54% untuk alel C dan 46% untuk alel T, yang didominasi oleh genotipe CT (54,5%). Pada populasi Eropa (*European-American*, Finnish di Finlandia, Britania di Inggris dan Skotlandia, Iberian di Spanyol, dan Toscana di Itali) menunjukkan 57% untuk alel C dan 43% untuk alel T sebesar 57% yang juga didominasi oleh CT (48,5%). Sedangkan pada populasi di Asia, genotipe gen GABRA didominasi oleh CC (*homozygote mutant*, 44,1%). Data ini diambil dari ras Asia yang terdapat di Cina Han (Beijing dan Cina Selatan) serta populasi Jepang di Tokyo dengan persentase alel C dengan T yang cukup signifikan yaitu sebesar 65,7% berbanding 34,3%.²⁰ Data ini serupa dengan hasil penelitian kali ini, yang menunjukkan bahwa

genotipe CC dominan terlihat pada populasi di Indonesia (Bandung). Kesamaan ini terjadi karena responden berasal dari Indonesia yang termasuk pada ras Asia. Perbedaan presentase antar ras merupakan bukti adanya persebaran genotipe yang berbeda antar ras.

Polimorfisme gen GABRA6 yang menyebabkan variasi ekspresi GABRA6 berkaitan dengan perubahan perilaku, kepribadian, dan fisiologis yang termasuk peningkatan produksi kortisol dan tekanan darah yang disebabkan karena stres.^{15,21-23} Kelebihan sekresi kortisol memengaruhi perkembangan berbagai suasana hati dan juga berupa gangguan kecemasan, termasuk depresi.^{21,24-26} Paparan terhadap stres dapat memodulasi efek inhibitori GABAergic sehingga mengakibatkan terhentinya sekresi *adenocorticotropin hormone* (ACTH) dan kortisol.^{27,28} Hal ini terlihat pada penelitian terdahulu yang menunjukkan pada individu dengan genotipe CC memiliki tekanan darah serta level kortisol yang lebih rendah dibandingkan individu dengan genotipe CT dan TT.¹⁵ Pemeriksaan SNP di populasi Swedia pada individu dengan homozigot pada alel T (TT) menunjukkan produksi kortisol yang meningkat setelah makan dibandingkan individu dengan genotipe

CT, hal ini menunjukkan adanya kondisi hiperkortisolisme.²⁹ Penelitian yang terdahulu menunjukkan subjek yang memiliki genotipe CC memiliki level yang rendah terhadap kehangatan, keinginan untuk berkelompok, pencarian kegembiraan, dan emosi positif. Profil kepribadian ini menunjukkan bahwa kecenderungan seseorang terhadap keadaan sosial.³⁰

Berdasarkan hasil korelasi analisis K10 dan identifikasi genotipe GABRA6 pada penelitian ini menunjukkan bahwa individu dengan genotipe genotipe CT berada dalam kondisi tidak stress, stres ringan, dan sedang, hal ini dapat disebabkan karena frekuensi 50% dari alel C dan T, sedangkan sebagian besar individu dengan genotipe CC dalam keadaan stres sedang. Respon dengan genotipe CC sebagian besar dalam keadaan baik (tidak mengalami stres) dan stres ringan. Tingginya frekuensi ekspresi dari genotipe CC menunjukkan bahwa individu dengan genotipe homozigot CC memberikan respon yang lebih rendah terhadap stres,¹⁵ dengan kata lain individu ini lebih resisten terhadap paparan stres. Hasil penelitian ini sesuai dengan referensi terdahulu meskipun distribusi genotipe CC juga terdapat pada kondisi stres sedang dan berat. Sehingga hasil analisis secara statistik menunjukkan bahwa tidak ada korelasi variasi genetik GABRA6 dengan kondisi stres pada populasi Indonesia.

Simpulan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan profil polimorfisme gen GABRA6 pada populasi Kota Bandung yaitu sebesar 84 responden memiliki genotipe CC (75%), 14 responden memiliki genotipe CT (12,5%), dan 14 responden lainnya memiliki genotipe TT (12,5%). Distribusi frekuensi gen GABRA6 pada penelitian ini tidak menggambarkan korelasinya dengan keadaan stres. Hal ini dapat disebabkan karena kurangnya jumlah

sampel/responden sehingga kurang mewakili populasi yang ada. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada anggota tim peneliti, yaitu Henry Ng, Shintya Noor Amalya, Casuarina Rusmawati, Indah Ardyanti Sagita, dan Anzari Muhammad.

Pendanaan

Penelitian ini merupakan penelitian mandiri atau tidak didanai oleh sumber dana manapun.

Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dengan pihak manapun pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE. Prevalence, Severity, and Comorbidity of 12-Month DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(6):617–27. doi: 10.1001/archpsyc.62.6.617
2. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62:593–602. doi: 10.1001/archpsyc.62.6.593
3. Kessler RC, Avenevoli S, McLaughlin KA, Green JG, Lakoma MD, Petukhova M, et al. Lifetime co-morbidity of DSM-IV disorders in the US National Comorbidity Survey Replication Adolescent Supplement (NCS-A). *Psychol Med*. 2012;42:1997–2010. doi:

- 10.1017/S0033291712000025
4. Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jonsson B, et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011;21:655–79. doi: 10.1016/j.euro neuro.2011.07.018
 5. Gustavsson A, Svensson M, Jacobi F, Allgulander C, Alonso J, Beghi E, et al. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2011; 21:718–79. doi: 10.1016/j.euro neuro.2011.08.008
 6. Slavich G, Cole S. The Emerging field of human social genomics. *Clinical Psychological Science.* 2013:331-48. doi: 10.1177/2167702613478594
 7. Arias B, Aguilera M, Moya J, Sáiz PA, Villa H, Ibáñez MI, García-Portillo MP, Bobes J, Ortet G, Fananas L. The role of genetic variability in the SLC6A4, BDNF and GABRA6 genes in anxiety-related traits. *Acta Psychiatrica Scandinavica.* 2012;125(3):194–202. doi: 10.1111/j.1600-0447.2011.01764.x
 8. Hasler G, Nugent AC, Carlson PJ, Carson RE, Geraci M, Drevets WC. Altered Cerebral Gamma-Aminobutyric Acid Type A-Benzodiazepine Receptor Binding in Panic Disorder Determined by [¹¹C]Flumazenil Positron Emission Tomography. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(10):1166–75.
 9. Kalin NH. Nonhuman primate studies of fear, anxiety, and temperament and the role of benzodiazepine receptors and GABA systems. *J Clin Psychiatry* 2003;64(Suppl. 3):41–4.
 10. Sen S, Villafuerte S, Nesse R et al. Serotonin transporter and GABAA alpha 6 receptor variants are associated with neuroticism. *Biol Psychiatry* 2004;55:244–9.
 11. Pham X, Sun C, Chen X, van den Oord EJ, Neale MC, Kendler KS, Hetttema JM. Association study between GABA receptor genes and anxiety spectrum disorders. *Depression and anxiety.* 2009;26(11):998-1003. doi: 10.1002/da.20628
 12. Sieghart W, Sperk G. Subunit composition, distribution and function of GABA(A) receptor subtypes. *Curr Top Med Chem.* 2002;2(8):795–816. doi: 10.2174/1568026023393507
 13. Whissell PD, Lecker I, Wang DS, Yu J, Orser BA. Altered expression of δ GABA A receptors in health and disease. *Neuropharmacology.* 2015;88:24-35. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.08.003.
 14. Farrant M, Nusser Z, Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABAA receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6:215–29. doi: 10.1038/nrn1625
 15. Uhart M, McCaul ME, Oswald LM, Choi L, Wand GS. GABRA6 Gene Polymorphism and an attenuated stress response. *Mol Psychiatry.* 2004;9(11):998–1006. doi: 10.1038/sj.mp.4001535
 16. Bougie E, Arim RG, Kohen DE, Findlay LC. Validation of the 10-item Kessler Psychological Distress Scale (K10) in the 2012 Aboriginal Peoples Survey. *Health reports.* 2016;27(1):3–10.
 17. Low J, Serfaty M, Davis S, Vickerstaff V, Gola A, Omar RZ, King M, Tookman A, Austen JS, Turner K, Jones L. Acceptance and commitment therapy for adults with advanced cancer (CanACT): study protocol for a feasibility randomised controlled trial. *Trials.* 2016 ;17(1):1. doi: 10.1186/s13063-016-1169-8
 18. Choi SK, Boyle E, Burchell AN, Gardner S, Collins E, Grootendorst P, Rourke SB, OHTN Cohort Study Group. Validation of six short and ultra-short screening instruments for depression for people living with HIV in Ontario:

- results from the Ontario HIV treatment network cohort study. *PloS one*. 2015 Nov 13;10(11):e0142706. doi: 10.1371/journal.pone.0142706
19. Tola HH, Shojaeizadeh D, Garmaroudi G, Tol A, Yekaninejad MS, Ejeta LT, Kebede A, Karimi M, Kassa D. Psychological distress and its effect on tuberculosis treatment outcomes in Ethiopia. *Global health action*. 2015;8. doi: 10.3402/gha.v8.29019
 20. Durbin, R. & D. Altshuler. 2008. 1000 Genomes Project. Available at: <http://www.1000genomes.org/> [Diakses 9 Mei 2015].
 21. Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57:925–35. doi: 10.1001/archpsyc.57.10.925
 22. Dick DM, Foroud T. Candidate genes for alcohol dependence: a review of genetic evidence from human studies. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:868–79. doi: 10.1097/01.ALC.0000065436.24221.63
 23. Sen S, Villafuerte S, Nesse R, Stoltenberg SF, Hopcian J, Gleiberman L et al. Serotonin transporter and GABA_A alpha 6 receptor variants are associated with neuroticism. *Biol Psychiatry* 2004;55:244–9.
 24. Vanitallie TB. Stress: a risk factor for serious illness. *Metabolism* 2002;51:40–5. doi: 10.1053/meta.2002.33191
 25. Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry* 2002;7:254–75.
 26. Sherwood Brown E, Varghese FP, McEwen BS. Association of depression with medical illness: does cortisol play a role? *Biol Psychiatry* 2004;55:1–9.
 27. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002;53:865–71. doi: 10.1016/S0022-3999(02)00429-4
 28. Jessop DS. Review: central non-glucocorticoid inhibitors of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *J Endocrinol* 1999;160:169–80. doi: 10.1677/joe.0.1600169
 29. Rosmond R, Bouchard C, Bjorntorp P. Allelic variants in the GABA_A(alpha)6 receptor subunit gene (GABRA6) is associated with abdominal obesity and cortisol secretion. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:938–41. doi:10.1038/sj.ijo.0802022
 30. Costa Jr PT, McCrae RR. Revised NEO Personality Inventory: Professional Manual. Psychological Assessment Resources: Odessa, FL, 1992.