

Invloed van serotoninetransporter-S/L-polymorfisme op bloedingstijd bij paroxetinegebruikers niet aangetoond

D.M.C. Hougardy, A.C.G. Egberts, F. van der Graaf, V.J. Brenninkmeijer en L.J.J. Derijks

Kernpunten

- Bloedingscomplicaties zijn potentieel ernstige bijwerkingen van SSRI's.
- Het achterliggende mechanisme is waarschijnlijk verminderde serotonineopname door bloedplaatjes vanuit het bloed, waardoor de plaatjesaggregatie vermindert.
- Mogelijk speelt de aanwezigheid van een of twee S-allelen voor de serotoninetransporter (resultierend in minder functionele eiwitten op het bloedplaatje) een rol in de primaire hemostase.
- In dit onderzoek is geen relatie aangetoond tussen het onderzochte serotoninetransporterpolymorfisme en de PFA-sluitingstijd.

Case reports en observationele onderzoeken hebben laten zien dat serotonerge antidepressiva (SSRI's) bloedingscomplicaties kunnen geven [1-4]. Abajo e.a. [5] toonden bijvoorbeeld aan dat SSRI-gebruikers een driemaal zo hoog risico hadden op een gastro-intestinale bloeding. Movig e.a. [1] vonden dat bij gebruikers van SSRI's die een orthopedische ingreep ondergingen, het peri-operatieve bloedverlies gemiddeld 500 ml meer was dan bij patiënten die deze middelen niet gebruikten.

Het mechanisme achter dit verhoogde bloedingsrisico door SSRI's is waarschijnlijk remming van de serotonineopname in de trombocyt, wat de primaire hemostase beïnvloedt. Serotonine is in rusttoestand opgeslagen in het bloedplaatje in zogenaamde *dense bodies*, maar komt na plaatjesactivatie vrij in de circulatie, samen met andere aggregerende factoren als adenosinedifosfaat, epinefrine en collageen, en stimuleert dan de aggregatie [6]. Aangezien bloedplaatjes zelf geen serotonine kunnen aanmaken, maar het uit het bloed moeten opnemen via de serotoninetransporter, leidt blokkade van de transporter tot een lagere concentratie serotonine in het bloedplaatje. In het experimentele onderzoek van Hergovich e.a. [6] was na 14 dagen paroxetinegebruik (eenmaal daags 20 mg) de serotonineconcentratie in de trombocyt met 83 % afgenomen ($p < 0,01$). De PFA-sluitingstijd (PFA = *platelet function analyzer*) werd hierdoor verlengd met 31 % ($p < 0,05$). De PFA-sluitingstijd is een maat voor de primaire hemostase.

Meijer e.a. [7] vonden in een *case-control*-onderzoek dat het risico op een bloedingscomplicatie het grootst was voor fluoxetine, sertraline, clomipramine en paroxetine; deze geneesmiddelen hebben binnen de groep van antidepressiva de sterkste bindingsaffiniteit

Abstract

Influence of serotonin transporter S/L polymorphism on bleeding time during paroxetine therapy not detected

Objective

The aim of this study was to evaluate whether and to what extent one particular serotonin transporter polymorphism increases the bleeding time in users of paroxetine. SSRIs are associated with an increased risk of bleeding disorders, considered to be a result of decreased platelet serotonin levels. Polymorphisms in the serotonin transporter gene (5-HTT) may influence the risk of SSRI-induced bleedings.

Design and methods

Patients were eligible if they were using paroxetine for at least four weeks and were aged between 18 and 70 years. 43 patients were included between September and November 2006. The genotype for the serotonin transporter (5HTTLPR), trough paroxetine plasma levels, PFA-100 closure time (COL/EPI) and a complete blood count were assessed.

Results

No significant difference was seen between the SS, SL, LL genotypes of the serotonin transporter and the PFA closure time. None of the covariates had a significant influence on the association between the serotonin transporter polymorphism and the PFA closure time. No difference was seen between the PFA closure time and the frequency of bruising and spontaneous bleedings between patients with at least one S allele and patients with the LL genotype.

Conclusion

Our prospective study does not support the assumption that paroxetine can cause a prolonged PFA closure time during paroxetine therapy due to a serotonin transporter polymorphism. Other genes representing the serotonin transporter, tryptophane or serotonin receptors could also contribute to bleeding complications during paroxetine therapy. Old age, use of platelet inhibitors and a history of gastrointestinal bleeding remain the focus for SSRI-induced bleeding complications.

PW Wetenschappelijk Platform. 2007;1(7):160-163

voor de serotoninetransporter en de laagste dissociatieconstante. Het gen dat codeert voor de serotoninetransporter is polymorf. Het polymorfisme dat het meest relevant wordt geacht is een *insertion/deletion* polymorfisme in de promotorregio van het gen (in de literatuur 5HTTLPR of SERTPR genoemd) [8-11]. Het 5HTTLPR-gen heeft een *short* (S) en een *long* (L) allel. Het S-allel is geassocieerd met een lagere transcriptieactiviteit (tot 50 % minder), een hoger risico op

stemmingsstoornissen, een slechtere respons op SSRI-therapie en meer bijwerkingen [12, 13]. Bij personen van het blanke ras is de genotypische verdeling 25 % SS, 47 % SL en 28 % LL [11]. Bij patiënten die homozygoot zijn voor het S-allel komt het serotonine-transporter gen minder tot expressie. Hierdoor worden minder serotoninetransporterbindingsplaatsen gevormd. Dat zou kunnen leiden tot serotoninedepletie in de trombocyt en een vergroot risico op bloedingen door SSRI-gebruik. Het doel van dit onderzoek was na te gaan of er een relatie bestaat tussen een polymorfisme voor de serotoninetransporter en de primaire hemostase bij gebruikers van de SSRI paroxetine.

Methoden

Onderzoeksopzet en populatie

Het onderzoek was prospectief, niet-gerandomiseerd en observationeel. De medisch-ethische toetsingscommissie van het Máxima Medisch Centrum verleende goedkeuring voor dit onderzoek en alle proefpersonen tekenden een schriftelijke toestemmingsverklaring. De power-berekening voor de steekproef werd gebaseerd op het onderzoek van Hergovich [6]. Hiertoe werd de aanname gedaan dat paroxetinegebruikers met een SS-genotype een PFA-sluitingstijd hebben die gemiddeld 20 s langer is dan de gemiddelde PFA-sluitingstijd (136 s versus 116 s). Met een power van 80 % en een α van 0,05 betekent dit 12 personen voor elk genotype, dus minimaal 36 te includeren proefpersonen.

Proefpersonen werden geworven via een advertentie in een regionaal dagblad. Inclusiecriteria waren een leeftijd tussen 18 en 70 jaar en paroxetinegebruik gedurende minimaal 4 weken. Exclusiecriteria waren trombopenie, lever- of nierfunctiestoornissen, recente (< 1 maand) operatieve ingreep, zwangerschap, lactatie en het gebruik van klinisch relevante interagerende medicatie, zoals orale anticoagulantia, trombocytenaggregatieremmers en NSAID's.

Metingen

Tijdens een onderzoeksvisite werd een gestandaardiseerde vragenlijst ingevuld (vastgelegd werden co-variabelen als roken, alcoholgebruik, indicatie voor paroxetinegebruik, optreden van blauwe plekken en spontane bloedingen) en er werd bloed afgenomen voor genotypering van de serotoninetransporter, bepaling van de PFA-sluitingstijd (als maat voor de primaire hemostase), paroxetineconcentratie en bloedbeeld [hemoglobine, leukocytenaantal + differentiatie, trombocytenaantal, von Willebrandfactor (vWF) en bloedgroep]. Een actueel medicatieoverzicht werd opgevraagd bij de openbare apotheek met toestemming van de proefpersoon. Als maat voor de primaire hemostase werd de PFA-100 gebruikt. De PFA-100 is een in-vitrotest waarbij veneus afgenomen citraatbloed over een gecoat [met de agonist collageen/epinefrine (COL/EPI) of collageen/adenosinedifosfaat (COL/ADP)] membraan wordt gezogen.

De bloedplaatjes hechten aan het membraan waardoor de opening wordt afgesloten. De PFA-tijd is een beter gestandaardiseerde test dan de in-vivobepaling van de bloedingstijd (Ivy-test) [14]. In dit onderzoek wordt met bloedingstijd de PFA-sluitingstijd bedoeld. In het onderzoek van Hergovich e.a. [6] werd een verlenging van de PFA-sluitingstijd van 31 % gezien, bepaald met de agonist COL/EPI. Daarom is de agonist COL/ADP buiten beschouwing gelaten in dit onderzoek. De COL/EPI-test werd direct (uiterlijk binnen 4 uur na bloedafname) in duplo uitgevoerd. De PFA-sluitingstijd (gemeten met COL/EPI) heeft een referentiegebied van 82-150 s. Genotypering van het 5HTTLPR-promotor-L/S-polymorfisme werd uitgevoerd middels polymerasekettingreactie. Als referentie is de methode van Caspi e.a. [15] gebruikt. Scheiding van de fragmenten gebeurde middels gel-elektroforese.

De plasmaconcentratie van paroxetine werd gemeten met behulp van een gevalideerde HPLC-methode. De methode is in het apotheeklaboratorium van het Máxima Medisch Centrum gevalideerd, maar nooit gepubliceerd.

Statistische analyse vond plaats met SPSS 12.0 voor Windows. De relatie tussen PFA-sluitingstijd en serotoninetransporter genotype en de invloed van co-variabelen werd onderzocht met behulp van ANOVA. Daarnaast werd de Student-t-test uitgevoerd om het verschil in bloedingstijd tussen proefpersonen met een S-allel en proefpersonen met een L-allel te onderzoeken.

Resultaten

Tussen oktober en november 2006 hebben 45 proefpersonen zich aangemeld voor inclusie. Van hen zijn 2 personen geëxcludeerd vanwege leverfunctiestoornissen ($n = 1$) of NSAID-gebruik ($n = 1$). Tabel 1 geeft de patiëntkarakteristieken weer, onderverdeeld naar genotype.

De gemiddelde PFA-sluitingstijd bij paroxetinegebruikers met SS-, SL- en LL-genotype was respectievelijk 126 [standaarddeviatie (SD) 38], 123 (SD 34) en 123 (SD 24) seconden (tabel 2). De PFA-sluitingstijden verschillen niet significant voor de onderzochte genotypes. Geen van de onderzochte co-variabelen had een significante bijdrage aan de relatie tussen serotoninetransporter genotype en PFA-sluitingstijd; leeftijd en vWF lieten de grootste bijdrage zien. Daarnaast kon geen verschil worden aangetoond in gemiddelde PFA-sluitingstijd, blauwe plekken en spontane bloedingen tussen proefpersonen met ten minste één S-allel en proefpersonen met een L-allel. De paroxetinespiegels bij paroxetinegebruikers met de genotypen SS, SL en LL van de serotoninetransporter waren respectievelijk 64 mg/l (SD 22), 37 mg/l (SD 43), 44 mg/l (SD 58). De spreiding tussen de monsters is groot en berust waarschijnlijk op toeval.

Beschouwing en conclusie

In dit onderzoek is geen relatie aangetoond tussen serotoninetrans-

Tabel 1**Patiëntenkenmerken**

Genotype	LL	SL	SS	Totaal
Aantal proefpersonen	19 (44 %)	18 (42 %)	6 (14 %)	43 (100 %)
Leeftijd (jaren) [□]	47,4 (6,7)	50,7 (13,5)	44,4 (15,0)	48,4 (11,1)
Geslacht (vrouw)	15 (79 %)	12 (67 %)	5 (84 %)	32 (74 %)
Alcoholgebruikers	8 (42 %)	9 (50 %)	2 (33 %)	19 (44 %)
Rokers	9 (47 %)	7 (39 %)	2 (33 %)	18 (42 %)
Indicatie depressie	9 (47 %)	5 (28 %)	1 (17 %)	15 (35 %)
Indicatie angst	0 (0 %)	2 (11 %)	1 (17 %)	3 (7 %)
Indicatie angst + depressie	2 (11 %)	1 (6 %)	1 (17 %)	4 (9 %)
Overige indicaties	8 (42 %)	10 (56 %)	3 (49 %)	36 (84 %)
Paroxetinedosis (mg) [□]	21,1 (6,5)	21,1 (7,4)	23,3 (7,5)	21,0 (6,9)
Paroxetinespiegel (mg/l) [□]	44,2 (57,8)	36,9 (42,8)	63,5 (21,9)	43,9 (48,0)
Bloedgroep o	5 (56 %)	6 (50 %)	5 (83 %)	16 (59 %)
Hemoglobine (mmol/l) [□]	8,7 (0,8)	9,0 (0,7)	8,3 (0,6)	8,7 (0,7)
Leukocytenaantal (10 ⁹ /l) [□]	7,1 (1,4)	6,6 (1,5)	6,8 (2,3)	6,8 (1,6)
Leukocyten + differentiatie afwijkend	6 (32 %)	3 (17 %)	2 (33 %)	16 (59 %)
Trombocytenaantal (10 ⁹ /l) [□]	306,4 (44,6)	307,0 (62,4)	295,5 (27,7)	305,2 (50,4)
vWF-activiteit (%) [□]	89,4 (17,6)	99,7 (18,0)	94,5 (25,7)	94,6 (19,1)

S = short allel, L = long allel. vWF = von Willebrandfactor.

[□] continue variabelen zijn weergegeven als gemiddelde + standaarddeviatie

porterpolymorfisme en bloedingstijd (gemeten als PFA-sluitingstijd). Voor zover bekend is dit het eerste onderzoek naar de relatie tussen een serotoninetransporterpolymorfisme en bloedingstijd bij paroxetinegebruikers.

Een verklaring voor onze bevinding is mogelijk dat de verminderde intracellulaire opslag van serotonine in de trombocyt wordt gecompenseerd door andere aggregerende factoren, zoals adenosinedifosfaat en epinefrine. Een andere verklaring is dat het relatieve tekort zich herstelt gedurende de eerste weken of maanden na start van paroxetinetherapie. In het onderzoek van Hergovich werd een verlenging van 31 % in de PFA-sluitingstijd gezien twee weken na start van paroxetine, maar werd niet naar de PFA-sluitingstijd op langere termijn gekeken. Mogelijk is de PFA-sluitingstijd niet gevoelig genoeg om kleine veranderingen in de bloedplaatjesfunctie zoals geïnduceerd door paroxetine te detecteren. Alle proefpersonen uit onze studie gebruikten reeds enkele maanden paroxetine (spreiding 1 maand tot > 12 maanden).

De genotypische verdeling is niet eenduidig in de literatuur [10, 11]; onze powerberekening is gebaseerd op een verdeling SS/SL/LL = 25 %/47 %/28 %. Een andere zeer recente studie [13] laat een genotypische verdeling zien van SS/SL/LL = 16 %/48 %/36 %. Deze

komt goed overeen met de resultaten in ons onderzoek. Daarnaast bezit 56 % van geïnccludeerde proefpersonen ten minste één S-allel; indien er sprake zou zijn geweest van een klinisch relevante verlenging van de bloedingstijd als gevolg van het bezit van een S-allel, zou dit zichtbaar geweest moeten zijn in onze populatie. In dit onderzoek is maar één gen onderzocht; andere genen die coderen voor de serotoninetransporter zijn buiten beschouwing gelaten, evenals genen die coderen voor tryptofaan- of serotonine-receptoren.

Geen van de onderzochte co-variabelen (paroxetinespiegel, indicatie, leeftijd, roken, alcoholgebruik, blauwe plekken/spontane bloedingen, bloedbeeld) droeg significant bij aan de relatie tussen serotoninetransporter genotype en PFA-sluitingstijd. De door ons waargenomen langere PFA-sluitingstijd (niet statistisch significant) bij oudere proefpersonen en proefpersonen met minder vWF komt overeen met bevindingen uit de literatuur [3, 4].

Enkele personen (n = 6) hadden een PFA-sluitingstijd van meer dan 150 s. De onderzochte co-variabelen waren gelijk verdeeld. 4 proefpersonen hadden bloedgroep o; 2 personen hadden een onbekende bloedgroep. Bloedgroep o is geassocieerd met minder vWF (referentiegebied vWF-activiteit 40-140 %) dan in de bloed-

Tabel 2

Invloed van genotype op hematologische parameters

Genotype	PFA-sluitingstijd (SD)	Blauwe plekken	Spontane bloedingen [□]
LL (n = 19)	123 (24) s	7 (37 %)	4 (21 %)
SL (n = 18)	123 (34) s	3 (17 %)	3 (17 %)
SS (n = 6)	126 (38) s	2 (33 %)	1 (17 %)
SL + SS (n = 24)	124 (34) s	5 (21 %)	4 (17 %)

PFA: platelet function analyzer; L = long allele; S = short allele

[□] spontane bloedingen in oog en neus

groepen A, B, AB (referentiegebied vWF 60-140 %). De primaire hemostase wordt beïnvloedt door deficiënties in de vWF. Op jonge leeftijd kan het compensatoire mechanisme voor stolling nog voldoende zijn, maar naarmate de leeftijd toeneemt kan dit steeds minder goed worden gecompenseerd en spelen daarnaast co-morbiditeit en polyfarmacie mogelijk een rol. Concluderend moet aandacht voor bloedingsrisico bij paroxetine-gebruikers zich blijven richten op patiënten met een hoog risico (zoals ouderen, historie van gastro-intestinale bloeding en gebruikers van NSAID's en trombocytenaggregatieremmers).

D.M.C. Hougardy, V.J. Brenninkmeijer en L.J.J. Derijks: Apotheek; F. van der Graaf: Klinisch Laboratorium, Máxima Medisch Centrum, Eindhoven/Veldhoven. A.C.G. Egberts: Disciplinegroep Farmaco-epidemiologie & Farmacotherapie, Universiteit Utrecht; Apotheek Universitair Medisch Centrum Utrecht.
Correspondentie: mevr. drs. D.M.C. Zuidema-Hougardy, dahliahougardy@hotmail.com.

Gebaseerd op de registratielezing van D.M.C. Hougardy.

Speciale dank gaat uit naar dr. Ronald Oosting van de Vakgroep

Psychofarmacologie, Faculteit Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht, voor genotypering van de serotoninetransporter.

LITERATUUR

- 1 Movig KLL, Janssen MW, de Waal Malefijt J, et al. Relationship of serotonergic antidepressants and need for blood transfusion in orthopedic surgical patients. *Arch Intern Med.* 2003;163:2354-8.
- 2 Dalton SO, Johansen C, Mellemkjaer L, et al. Use of selective serotonin reuptake inhibitors and risk of upper gastrointestinal tract bleeding: a population-based cohort study. *Arch Intern Med.* 2003;163(1):59-64.
- 3 Ufkes JGR. Maagdarmbloedingen bij ouderen door antidepressiva. *Pharm Weekbl.* 2001;136:1630-1.
- 4 van Walraven C, Mamdani MM, Wells PS, et al. Inhibition of serotonin reuptake by antidepressants and upper gastrointestinal bleeding in elderly patients: retrospective cohort study. *BMJ.* 2001;323(7314):655-8.
- 5 de Abajo FJ, Rodriguez LA, Montero D. Association between selective serotonin reuptake inhibitors and upper gastrointestinal bleeding: population based case-control study. *BMJ.* 1999;319(7217):1106-9.

- 6 Hergovich N, Aigner M, Eichler HG, et al. Paroxetine decreases platelet serotonin storage and platelet function in human beings. *Clin Pharmacol Ther.* 2000;68:435-42.
- 7 Meijer WEE, Heerdink ER, Nolen WA, et al. Association of bleeding with degree of serotonin uptake inhibition by antidepressants. *Arch Intern Med.* 2004;164:2367-70.
- 8 Smith GS, Lotrich FE, Malhotra AK, et al. Effects of serotonin transporter promoter polymorphisms on serotonin function. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29:2226-34.
- 9 Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, et al. Serotonin transporter: gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. *Mol Interv.* 2004;4(2):109-23.
- 10 Kunugi H, Hattori M, Kato T, et al. Serotonin transporter gene polymorphisms: ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry.* 1997;2:457-62.
- 11 Smits KM, Smits LJM, Schouten JSAG, et al. Influence of SERTPR and Stin2 in the serotonin transporter gene on the effect of selective serotonin reuptake inhibitors in depression: a systematic review. *Mol Psychiatry.* 2004;9:433-41.
- 12 Murphy GM Jr, Hollander SB, Rodrigues HE, et al. Effects of the serotonin transporter gene promoter polymorphism on mirtazapine and paroxetine efficacy and adverse events in geriatric major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2004;61(11):1163-9.
- 13 Hariri AR, Brown SM. Images in neuroscience: serotonin. *Am J Psychiatry.* 2006;163:12.
- 14 Hayward CPM, Harrison P, Cattaneo M, et al. Platelet function analyzer (PFA)100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost.* 2006;4:312-9.
- 15 Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, et. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science.* 2003;18;301(5631):386-9.
- 16 Serretti A, Kato M, De Ronchi D, et al. Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with selective serotonin reuptake inhibitor efficacy in depressed patients. *Mol Psychiatry.* 2007;12(3):247-57.