

University of Groningen

The hyperserotonemia of autism spectrum disorders

Mulder, Erik Joan

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:

2006

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

Citation for published version (APA):

Mulder, E. J. (2006). The hyperserotonemia of autism spectrum disorders. s.n.

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.

Samenvatting

Samenvatting

Dit proefschrift gaat over de plaatjes hyperserotonemie van autisme. In *hoofdstuk 1* worden de achtergronden van het onderzoek beschreven. Het begint met een overzicht van autisme en autisme spectrum stoornissen (ASS): de terminologie, definities, diagnostiek, oorzakelijke factoren en behandeling van. Vervolgens worden de functie en het metabolisme van serotonine besproken. Het hoofdstuk sluit af met een uitgebreide beschouwing over de huidige stand van zaken met betrekking tot de beschikbare kennis over de rol van het serotonerge systeem in autisme spectrum stoornissen.

Autisme is een ernstige neuropsychiatrische ontwikkelingsstoornis, die zich uit op verschillende ontwikkelingsgebieden. Er is sprake van een combinatie van beperkingen op het gebied van sociale interactie, taal en communicatie en rigide en stereotiepe gedragingen. De ontwikkelingsproblemen zijn vaak al vanaf jonge leeftijd aanwezig. De uitingsvormen van autisme zijn divers, daarom spreekt men van een spectrum van autistische problematiek, of autisme spectrum stoornissen. In het DSM-IV-TR classificatiesysteem wordt de categorie pervasieve ontwikkelingsstoornissen gebruikt om autisme spectrum stoornissen te classificeren. Binnen deze categorie vallen de autistische stoornis, de stoornis van Asperger, de stoornis van Rett, de desintegratieve stoornis van de kindereleeftijd en de Pervasieve Ontwikkelingsstoornis, Niet Anderszins Omschreven (in het Engels: Pervasive Developmental Disorder, Not Otherwise Specified, afgekort: PDD-NOS). Het stellen van een diagnose binnen het autisme spectrum is moeilijk, omdat het beeld zo van patiënt tot patiënt verschilt. In de meest recente literatuur wordt geschat dat 6 van de 1000 kinderen en adolescenten een autisme spectrum stoornis hebben. De verhouding tussen jongens en meisjes is 4:1. De oorzaak van autisme spectrum stoornissen is onbekend. Uit onderzoek blijkt dat erfelijkheid een belangrijke rol speelt in het ontstaan van autisme spectrum stoornissen, daarnaast zijn er in groepen mensen met deze problematiek afwijkingen in het emotionele systeem van de hersenen gevonden bij beeldvormend onderzoek, zoals MRI en PET scans. Er is geen behandeling beschikbaar, die tot genezing van autisme spectrum stoornissen leidt.

In een grote groep mensen met autisme zijn verhoogde serotonine waarden in bloedplaatjes gevonden. Serotonine is een neurotransmitter/neurohormoon met veel functies in het menselijk lichaam. Het is één van de stoffen die de prikkeloverdracht

in het brein en de darm verzorgt en het speelt het een rol in het hart- en vaat stelsel. Ook heeft serotonine een belangrijke functie als neurohormoon in de ontwikkeling van het zenuwstelsel en in vroege ontwikkelingsstappen van het embryo. Serotonine komt overal in het lichaam voor en wordt op vele verschillende plaatsen gemaakt, zowel in de darm, als in de hersenen. De voorloper van serotonine is tryptofaan. Tryptofaan wordt via de darm opgenomen in het lichaam, het grootste deel van deze stof wordt gebruikt voor de productie van eiwitten en stoffen die te maken hebben met de afweer. Een klein deel wordt in de darmen en de hersenen omgezet in serotonine.

In de hersenen wordt serotonine opgeslagen in het neuron (zenuwcel) en na prikkeling van het neuron in de synapsspleet uitgescheiden. Hier doet het zijn werk als neurotransmitter door het activeren van verschillende serotonine receptoren. Hierna wordt serotonine weer opgenomen in het neuron, via het serotonine transporter molecuul, dat zich in de membraan van het neuron bevindt. Daarna wordt serotonine afgebroken tot de stof 5 hydroxy-3-indoleacetic acid (5-HIAA). De in de darm geproduceerde serotonine komt vrij in de bloedbaan. In de bloedbaan wordt het grootste deel van de serotonine snel opgenomen in de lever en de darm, waar het vervolgens wordt afgebroken tot 5-HIAA. 5-HIAA uit de hersenen en de darm wordt via de nieren in de urine uitgescheiden. Een zijpad van het serotonine metabolisme wordt gevormd door de productie van melatonine, een stof die een belangrijke rol speelt in het dag-nacht-ritme. De productie van melatonine vindt plaats in de pijnappelklier, een klier die zich juist onder de hersenen bevindt. Het afbraakproduct van melatonine (6-sulfatoxy-melatonine, 6-SM) wordt ook via de urine uitgescheiden.

Niet alle in de darm geproduceerde serotonine wordt opgenomen in de lever en de long, een klein deel van de serotonine blijft achter in het bloed. Ongeveer 99% van de achtergebleven serotonine wordt opgeslagen in de bloedplaatjes. Het bloedplaatje heeft een belangrijke rol in de bloedstolling. Dit is een kernloze cel die ongeveer 8 tot 12 dagen in de bloedbaan aanwezig is. Gedurende zijn aanwezigheid in de bloedbaan neemt het bloedplaatje serotonine op via een serotonine transporter molecuul in zijn membraan. De serotonine transporter van het neuron en het bloedplaatje hebben exact dezelfde structuur en worden gecodeerd door hetzelfde gen: het serotonine transporter gen.

Het serotonine transporter gen bevindt zich op chromosoom 17. Er zijn twee varianten van het serotonine transporter gen gevonden die worden verondersteld

invloed te hebben op de expressie van dit gen: een promotor insertie-deletie polymorfisme (5-HTTLPR) en een 'variable number of tandem repeats' (VNTR) polymorfisme in intron 2.

In 1961 werd voor de eerste keer een verhoogd serotonine in het bloed van mensen met autisme gevonden. *Hoofdstuk 1* bevat een overzicht van het onderzoek tot nu toe. Er is veel onderzoek gedaan om dit verschijnsel te verklaren. Een verhoogd serotonine in de bloedplaatjes, of plaatjes hyperserotonemie, van patiënten met autisme blijkt de meest gerepliceerde bevinding binnen de psychiatrie. Echter de oorzaak van de hyperserotonemie en de rol hiervan in het ontstaan van autisme is vooralsnog niet gevonden. Ondanks alle onderzoek zijn verschillende belangrijke vragen nog niet beantwoord: Komt een verhoogd serotonine in plaatjes serotonine alleen voor bij 'kern-autisme' of is dit ook terug te vinden bij andere autisme spectrum stoornissen, zoals de stoornis van Asperger en PDD-NOS? Is hyperserotonemie in bloedplaatjes specifiek voor autisme of komt het ook voor bij mensen met een verstandelijke handicap? Is er een relatie tussen het klinisch beeld, of een bepaald patroon van gedrag, en plaatjes serotonine waarden in autisme? Wat is de associatie tussen erfelijkheidsaspecten van het serotonerge systeem, hyperserotonemie en het klinisch beeld? Welk mechanisme veroorzaakt eigenlijk de verhoging van de serotonine in de bloedplaatjes? Is de verhoging een gevolg van hoe het bloedplaatje omgaat met serotonine? Of ligt de oorzaak bij een verhoogde productie van serotonine in de darm, waardoor het aanbod van serotonine aan het bloedplaatje eenvoudig groter is? En tot slot: Zijn plaatjes serotonine waarden van nut voor het voorspellen van het effect van medicatie? Met het onderzoek dat wordt beschreven in dit proefschrift is geprobeerd antwoord te geven op een aantal van deze vragen.

Karakterisering van de plaatjes hyperserotonemie van autisme

Hoofdstuk 2 doet verslag van een onderzoek naar verschillende beschrijvende aspecten van de plaatjes hyperserotonemie van autisme in een grote groep patiënten met autisme spectrum stoornissen, een groep met een verstandelijke handicap zonder autisme spectrum stoornis en een zich normaal ontwikkelende groep. Het eerste doel was het repliceren van de bevinding van verhoogde plaatjes serotonine waarden bij kinderen en adolescenten met autisme. In deze groep bleek inderdaad een verhoging van het groepsgemiddelde plaatjes serotonine. Bovendien

toonden we in dit onderzoek voor het eerst aan, dat er in de groep kinderen en adolescenten met PDD-NOS ook sprake was van een significante verhoging van serotonine in het bloedplaatje. Bij de kleine groep patiënten met de stoornis van Asperger werd geen significante verhoging gevonden. In de groep van kinderen en adolescenten met een verstandelijke beperking zonder autisme spectrum stoornissen bleken de serotonine waarden gelijk aan die van de groep die zich normaal ontwikkelde. Samengenomen geven de resultaten van dit deel van de studie aan dat verhoogde plaatjes serotonine waarden niet alleen voorkomen bij 'kern-autisme', maar ook bij de mildere autisme spectrum stoornissen. Voorts blijkt dat verhoogde plaatjes serotonine waarden geassocieerd zijn met ontwikkelingsproblemen op het autisme spectrum en niet aan de verstandelijke ontwikkeling.

De belangrijkste bevinding van dit onderzoek echter betrof het aantonen van een tweedeling, of bimodale verdeling, van de serotonine waarden in de autisme spectrum groep. Een zogenaamde 'hyperserotonerge' subgroep, bestaande uit ongeveer de helft van de autisme spectrum groep blijkt te kunnen worden onderscheiden van een subgroep met normale serotonine waarden. Tot op heden was het absoluut niet duidelijk of er sprake was van een verschuiving naar rechts van de hele curve van serotonine waarden bij alle mensen met autisme spectrum stoornissen, of dat er sprake was van een hyperserotonerge subgroep binnen de groep met autisme spectrum stoornissen. Opvallend was dat ongeveer 40% van de proefpersonen met autisme en ongeveer 60% van die met PDD-NOS in de hyperserotonerge groep bleken te vallen. Dit illustreert dat hyperserotonemie kennelijk niet direct samenhangt met de ernst van een autisme spectrum stoornis. Echter, een uitgebreide analyse van verschillende demografische, klinische en gedragsvariabelen leverde geen resultaten op, waardoor aan hyperserotonemie evenmin een bepaald specifiek klinisch beeld of patroon van gedragingen kon worden gekoppeld. Wel biedt de tweedeling in de verdeling van plaatjes serotonine waarden in autisme de mogelijkheid deze biochemische maat te gebruiken, als biologisch endofenotype in verdere neurobiologische, genetische en farmacologische studies in autisme spectrum stoornissen.

Serotonine transporter gen varianten en autisme spectrum stoornissen

Het serotonine transporter gen is een ander onderdeel van het serotonine systeem, dat verder onderzoek verdient vanwege zijn mogelijke rol in autisme, in de gedragsdomeinen van autisme en in verhoogde plaatjes serotonine waarden. Het serotonine transporter gen codeert informatie voor het serotonine transporter molecuul. Deze serotonine transporter zorgt voor de opname van serotonine in het bloedplaatje en in de zenuwcel. In *hoofdstuk 3* werd de associatie onderzocht tussen functionele varianten van het serotonine transporter gen enerzijds, en het risico op het hebben van autisme en de ernst van aan autisme gerelateerde gedragsdomeinen anderzijds. Er werd een benadering gekozen, waarbij gebruik werd gemaakt van trio's, die bestaan uit een proefpersoon met een autisme spectrum stoornis, zijn/haar biologische ouders of één biologische ouder en een biologische broer of zus zonder een autisme spectrum stoornis. De twee varianten van het serotonine transporter gen, die worden verondersteld invloed te hebben op de expressie van dit gen werden onderzocht: het promotor insertie-deletie polymorfisme (5-HTTLPR) en het 'variable number of tandem repeats' (VNTR) polymorfisme in intron 2.

Er werd geen significante associatie gevonden tussen het risico op het hebben van een autisme spectrum stoornis en de 5-HTTLPR of de intron 2 VNTR allelen. De ernst van rigide, stereotiep en dwangmatig gedrag bleek samen te hangen met het '12-repeat' allel van het intron 2 VNTR polymorfisme. Hoewel deze bevinding replicatie behoeft, wijst deze uitkomst erop dat verder onderzoek naar de rol van de VNTR polymorfisme van het intron 2 en andere gerelateerde polymorfismen belangrijk is. Samen met reeds bekende gegevens uit eerdere onderzoeken draagt dit onderzoek bij aan de vaststelling dat het serotonine transporter gen een kwetsbaarheidsgen is voor autisme spectrum stoornissen.

Het mechanisme van de plaatjes hyperserotonemie: Het aanbod van serotonine aan het bloedplaatje

De hoeveelheid serotonine in bloedplaatjes wordt globaal gezien bepaald door twee processen: de manier waarop het bloedplaatje omgaat met serotonine en de hoeveelheid serotonine die aan het plaatje wordt aangeboden. Een verhoogd aanbod van serotonine aan het bloedplaatje zou worden veroorzaakt door een verhoogde productie van serotonine in de darm. Een eventuele verhoging van de productie van

serotonine in de darm is onder andere te onderzoeken door afbraakproducten van serotonine in de urine te meten. Hoewel op basis van de beschikbare literatuur tot op heden de manier waarop het bloedplaatje omgaat met serotonine het belangrijkste mechanisme lijkt, is er geen sluitend bewijs dat een verhoogd aanbod van serotonine helemaal geen rol speelt.

Hoofdstuk 4 beschrijft een nieuwe laboratoriumbepaling die wij hebben ontwikkeld, voor het meten in urine van 5 hydroxy-3-indoleacetic acid (5-HIAA), het belangrijkste afbraakproduct van serotonine. Delen van het analytisch proces zijn in deze bepaling geautomatiseerd. De tijd die nodig is om een urinemonster te analyseren is door dit zogenaamde 'automated on-line SPE' systeem verminderd tot 20 minuten. Hierdoor werd een belangrijke toename bereikt van het aantal monsters dat verwerkt kan worden in korte tijd. De methode bleek zowel betrouwbaar als nauwkeurig, in een normale controle groep, in patiënten met bepaalde maagdarm tumoren, die serotonine produceren en in kinderen en adolescenten met autisme.

Deze nieuwe bepaling hebben wij vervolgens gebruikt in een uitgebreide studie bij kinderen en adolescenten met autisme beschreven in *hoofdstuk 5*. In deze studie werd de 24 uren uitscheiding in urine bepaald van verschillende stoffen uit het serotonine metabolisme: 5-HIAA, serotonine en 6-sulfatoxy-melatonine (6-SM, het afbraakproduct van melatonine). De uitscheiding van deze stoffen in de urine is onderzocht in twee groepen proefpersonen met autisme spectrum stoornissen, één groep met verhoogde plaatjes serotonine waarden en een andere groep met normale plaatjes serotonine waarden. Het doel was een eventuele toename van de serotonine productie in de darm in relatie tot de hyperserotonemie van autisme te onderzoeken.

De resultaten van de studie geven geen uitsluitsel over de rol van serotonine productie in de darm in de verhoging van serotonine in bloedplaatjes bij mensen met autisme. Hoewel de 24 uren uitscheiding in urine van 5-HIAA en serotonine was verhoogd in de groep met een verhoogd serotonine, waren de verschillen net niet significant. Wel werd een significant lagere 24 uren uitscheiding in de urine van het afbraakproduct van melatonine, 6-SM, gevonden. De exacte betekenis hiervan is vooralsnog onbekend.

Hoe dan ook geeft dit onderzoek aan dat, in tegenstelling tot een voorzichtige consensus tot dit moment, een verhoogde serotonine productie in de darm als mogelijke oorzaak van hyperserotonemie in stoornissen op het autisme spectrum

niet uitgesloten kan worden. Verder onderzoek in grotere groepen is noodzakelijk om deze bevinding verder te onderbouwen.

Plaatjes serotonine en psychotrope medicatie

Hoofdstuk 6 bevat een commentaar op een gepubliceerd onderzoek naar de relatie tussen een daling van het serotonine gehalte in het bloed enerzijds, en het effect van anti-depressiva anderzijds in patiënten met een obsessief-compulsieve stoornis. In dit soort studies blijken niet alleen de eigenschappen van de psychiatrische stoornis, het onderzochte medicament en het serotonine systeem van belang, maar vooral ook de eigenschappen van het bloedplaatje zelf. In het commentaar wordt aan de orde gesteld dat dit laatste door de auteurs van dit artikel onvoldoende werd onderkend. Voorts worden vraagtekens gezet bij de bewering van de auteurs, dat een daling van het serotonine gehalte in het bloed tijdens het gebruik van antidepressiva iets zegt over mogelijke afwijkingen in het serotonine systeem zelf bij een obsessief-compulsieve stoornis.

Discussie en toekomstperspectief: De hyperserotonemie van autisme spectrum stoornissen – belangrijk en klinisch relevant endofenotype of interessant maar secundair bijverschijnsel?

Hoofdstuk 7 besluit met een beschouwing over de bevindingen van de onderzoeken in dit proefschrift en de mogelijke implicaties voor verder onderzoek. De bevindingen in dit proefschrift illustreren bij uitstek de manier waarop wetenschap werkt. Hoewel een aantal vragen met betrekking tot de hyperserotonemie van autisme spectrum stoornissen lijkt te zijn beantwoord, lokken de bevindingen vele nieuwe fascinerende vragen uit. Deze scheppen mogelijkheden voor het ontwikkelen van nieuwe hypothesen en verder onderzoek.

De klaarblijkelijke bimodale verdeling van plaatjes serotonine waarden onderbouwt de mogelijke waarde van deze biologische marker als endofenotype in een verscheidenheid aan onderzoeken. In de eerste plaats zal interventie onderzoek, in het bijzonder medicatie onderzoek, kunnen profiteren van de beschikbaarheid van een objectieve, relatief eenvoudig toegankelijke, biologische maat. Verder kunnen beeldvormend en genetisch onderzoek baat hebben bij het gebruik van een betrouwbaar meetbare variabele naast, of in plaats van, gedragsmaten. De klinische

betekenis en de bruikbaarheid van plaatjes serotonine voor autisme spectrum stoornissen moet nog worden vastgesteld en gebruik van plaatjes serotonine metingen heeft vooralsnog geen enkele plaats in de individuele zorg voor patiënten. Desondanks geven de resultaten van dit onderzoek voldoende aanleiding tot het verder onderzoeken van de bruikbaarheid van deze marker in het onderzoek naar en de behandeling van autisme spectrum stoornissen

De functionele varianten van het serotonine transporter gen, evenals andere polymorfismen in dit gen lijken belangrijk voor gedrag gerelateerd aan autisme. Daarnaast is er een, weliswaar klein, effect van varianten van het serotonine transporter gen op de hoogte van plaatjes serotonine waarden. Hoewel de relatie tussen autisme spectrum stoornissen en het serotonine transporter gen zeer complex is, zou het serotonine transporter gen, op zijn minst als co-variaat, moeten worden meegenomen in verder onderzoek naar het serotonine systeem bij autisme spectrum stoornissen.

Het mechanisme dat ten grondslag ligt aan de verhoging van de waarden van plaatjes serotonine in autisme spectrum stoornissen is onbekend. Volgend uit de bevindingen van ons onderzoek zou een mogelijk verhoogd aanbod van serotonine aan het bloedplaatje meer aandacht moeten krijgen. In verder onderzoek naar dit mechanisme zou echter ook, zoals eerder genoemd, de invloed van serotonine transporter gen varianten moeten worden meegenomen.

Wat leert dit onderzoek ons nu over de hyperserotonemie van autisme spectrum stoornissen, de rol van hyperserotonemie in het ontstaan van autisme spectrum stoornissen en uiteindelijk over autisme stoornissen zelf? Het is onmogelijk om een sluitende conclusie te formuleren over de rol van hyperserotonemie en het serotonerge systeem in autisme. Hoewel verschillende factoren in dit proefschrift aan de orde kwamen, zijn ook een aantal belangrijke factoren niet onderzocht. Zo zijn er bijvoorbeeld in het serotonine transporter gen verschillende zeldzame mutaties, die van invloed zijn op het functioneren van de serotonine transporter. Ook zijn er vele andere processen en genen betrokken bij het serotonerge systeem en autisme spectrum stoornissen, zoals verschillende enzymen en de serotonine receptoren. Ten slotte worden er ook genen onderzocht die weliswaar niet rechtstreeks met het serotonine systeem te maken lijken te hebben, maar die op een chromosoom zeer dichtbij het serotonine transporter gen liggen en daardoor mogelijk van invloed zijn.

Een geheel ander onderzoeksgebied, dat aandacht behoeft als het gaat om autisme spectrum stoornissen en het serotonine systeem is het opkomende gebied van de epigenetica. De epigenetica bestudeert werkingsmechanismen, die te maken hebben met het reguleren van de expressie van genen. Epigenetische mechanismen lijken een rol te spelen bij de overerving van eigenschappen van generatie op generatie, terwijl informatie opgeslagen in het DNA zorgt draagt voor de overdracht van erfelijkheidsinformatie op de langere termijn. De manier van overerving van autisme en autisme spectrum stoornissen suggereert een rol van epigenetische mechanismen in het ontstaan van deze problematiek.

Samenvattend kan gesteld worden dat het onderzoek gepresenteerd in dit proefschrift opnieuw aantoont dat afwijkingen in het serotonine systeem zonder enige twijfel aanwezig zijn in autisme spectrum stoornissen. We hebben laten zien dat verhoogde plaatjes serotonine waarden voorkomen in zowel 'kern-autisme' als in de mildere autisme spectrum stoornissen. Daarnaast hebben we een bimodale verdeling van deze marker aangetoond. We bevestigden de rol van het serotonine transporter gen in aan autisme gerelateerd gedrag. Daarnaast kan ons onderzoek de eventuele rol van een verhoogde serotonine productie in de darm in de plaatjes hyperserotonemie van autisme spectrum stoornissen niet uitsluiten.

De betekenis van deze bevindingen voor eventuele afwijkingen van het serotonine systeem in het brein van mensen met autisme is niet duidelijk. Immers de betekenis van metingen in het bloed en de urine voor processen in het brein is niet of nauwelijks bekend. Op basis van de literatuur is er echter reden aan te nemen, dat er grote overeenkomsten zijn tussen de serotonine systemen in het brein en de rest van het lichaam, in het bijzonder het bloedplaatje. Het is dus zinvol om onderzoek naar perifere maten als deze voort te zetten, zeker gezien het feit dat direct onderzoek naar het levende brein van mensen met autisme onmogelijk is.

Concluderend blijkt de hyperserotonemie van autisme spectrum stoornissen nog steeds een intrigerend fenomeen. Hoewel in 45 jaar van intensief en nauwkeurig onderzoek verschillende vragen zijn beantwoord, blijft het de vraag of we te maken hebben met een belangrijk en klinisch relevant endofenotype van autisme spectrum stoornissen of met een interessant maar secundair verschijnsel.

