

Variación en el gen del transportador de serotonina y alucinaciones auditivas en la psicosis

Olga Rivero, Julio Sanjuán, Eduardo Jesús Aguilar, José Carlos González, María Dolores Moltó, Rosa de Frutos, Carmen Nájera

Introducción. Estudiar el papel del gen del transportador de serotonina (*SLC6A4*) en el procesado emocional de las alucinaciones auditivas podría ser muy importante para entender mejor su fisiopatología. Además, este gen ya se ha relacionado previamente con trastornos emocionales. El objetivo fue evaluar la relación entre polimorfismos del gen *SLC6A4* y diferentes aspectos de las alucinaciones auditivas en la esquizofrenia, con una especial consideración hacia la respuesta emocional frente a las alucinaciones auditivas.

Sujetos y métodos. Se compararon dos muestras de 224 pacientes con alucinaciones auditivas y 346 sujetos sanos. La evaluación de las alucinaciones auditivas en los pacientes psicóticos se realizó mediante la escala para la valoración de los síntomas psicóticos (PSYRATS). Varios polimorfismos situados en el gen *SLC6A4* se genotiparon y analizaron a través de comparaciones de casos y controles y análisis de asociación con diferentes parámetros clínicos de las alucinaciones auditivas.

Resultados. No se encontraron diferencias entre pacientes y controles para ninguno de los polimorfismos analizados ($p > 0,05$). Sin embargo, la evaluación de los ítems de la escala PSYRATS mostró que los alelos de baja expresión del polimorfismo 5-HTTLPR se asociaban con niveles más altos de ansiedad ($p = 0,049$, corregido para el ítem 'intensidad de la ansiedad'). Además, se observó una tendencia a asociación con el parámetro 'repercusión' ($p = 0,06$, corregido). Estos ítems se relacionan con la dimensión emocional de las alucinaciones auditivas. No se observó, en cambio, asociación con parámetros relacionados con otras dimensiones de dichas alucinaciones.

Conclusiones. Nuestros resultados apoyan el posible papel del transportador de serotonina en la respuesta emocional de los pacientes con alucinaciones auditivas.

Palabras clave. Alucinaciones auditivas. Polimorfismos genéticos. Psicosis. Respuesta emocional. *SLC6A4*. Transportador de serotonina.

Introducción

La falta de hallazgos consistentes en el campo de la genética molecular de la esquizofrenia ha llevado a proponer la deconstrucción del síndrome en endofenotipos más específicos [1]. Pero antes de seleccionar el endofenotipo más adecuado, es necesario decidir cómo será la selección de pacientes, y esta decisión debe estar basada en la clínica. El problema es [2] que hay 69 posibles combinaciones de síntomas que satisfacen los criterios 'A' del *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, cuarta edición* (DSM-IV) para esquizofrenia [3]. Por esto consideramos que para entender la fisiología de la esquizofrenia necesitamos entender la neurobiología de sus síntomas más frecuentes.

Aunque las alucinaciones auditivas (AA) pueden presentarse en otros trastornos mentales, se pueden considerar como el rasgo distintivo de los procesos psicóticos, y especialmente de la esquizofrenia [4].

El presente estudio es parte de una aproximación que integra hallazgos fenomenológicos [5], genéticos [6,7] y de neuroimagen [8], en un intento de comprender las bases neurobiológicas de las AA de los pacientes psicóticos. Curiosamente, la mayoría de los estudios sobre la genética de las alucinaciones se han realizado en pacientes neurológicos [9,10]. Sin embargo, en aquellas condiciones o cuadros médicos donde tienen lugar alucinaciones, las alucinaciones visuales son las que predominan, con la única excepción de la esquizofrenia, con predominancia de alucinaciones auditivas, y especialmente voces [11]. Además, esas voces normalmente presentan un contenido perturbador, que induce una fuerte respuesta emocional [12,13].

Durante años se han investigado las bases genéticas de la emocionalidad, y el sistema serotoninérgico parece ser de especial interés. La serotonina es importante en el neurodesarrollo, la morfogénesis adulta y la plasticidad sináptica, y, además, con-

Departamento de Genética; Facultad de Biología; Universitat de València (O. Rivero, M.D. Moltó, R. de Frutos, C. Nájera). Departamento de Medicina; Facultad de Medicina; Universitat de València (J. Sanjuán). Servicio de Psiquiatría; Hospital Clínico Universitario (J.C. González). Hospital de Sagunto (E.J. Aguilar). Valencia, España. CIBERSAM (ISCIII, Ministerio de Sanidad).

Correspondencia:

Dra. Olga Rivero Martín. Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universitat de València. Doctor Moliner, 50. E-46100 Burjassot (Valencia).

Fax:

+34 963 543 029.

E-mail:

olga.rivero@uv.es

Financiación:

Ministerio de Sanidad: Instituto de Salud Carlos III, FIS02/0018, Red de Genotipación y Psiquiatría Genética-ISCIII G03/184, Red de Enfermedades Mentales y CIBER de Salud Mental (CIBERSAM). Durante la realización de este estudio, O.R. disfrutó de una beca predoctoral del programa V Segles de la Universitat de València.

Agradecimientos:

Al Dr. K.P. Lesch, por la lectura y revisión de una versión preliminar de este trabajo, y a I. Toirac, A. Tolosa y J.L. Ivorra, por su valiosa ayuda en la extracción del ADN.

Aceptado tras revisión externa:

21.09.09.

Cómo citar este artículo:

Rivero O, Sanjuán J, Aguilar EJ, González JC, Moltó MD, De Frutos R, et al. Variación en el gen del transportador de serotonina y alucinaciones auditivas en la psicosis. Rev Neurol 2010; 50: 325-32.

English version available in www.neurologia.com

© 2010 Revista de Neurología

trola diversos procesos neurales. La transmisión serotoninérgica está regulada principalmente por el transportador de serotonina, codificado por el gen *SLC6A4*. Un importante número de estudios ha relacionado este gen con enfermedades neuropsiquiátricas de tipo afectivo o relacionadas con la ansiedad, como el trastorno obsesivo-compulsivo, la impulsividad, la depresión mayor y el elevado neuroticismo [14-16]. Asimismo, se ha analizado la relación entre el gen *SLC6A4* y la esquizofrenia, aunque los resultados son menos claros y más contradictorios [17].

Recientemente, hemos investigado si un polimorfismo funcional del gen *SLC6A4* (5-HTTLPR) estaba asociado con las alucinaciones auditivas en pacientes psicóticos [6]. Este polimorfismo, situado en una región repetitiva que modula la actividad transcripcional, consta de una variante larga de 16 repeticiones (alelo *l*) y una variante corta de 14 repeticiones (alelo *s*), esta última con una menor actividad transcripcional [18]. En nuestro estudio preliminar [6], concluimos que los pacientes con al menos una copia del alelo *s* mostraban una mayor respuesta emocional frente a las AA. Estos resultados son coherentes con estudios previos de otros autores [19,20]. También se ha descrito un polimorfismo de un único nucleótido (SNP) llamado rs25531, que consiste en una sustitución A/G aguas arriba del 5-HTTLPR que cambia la secuencia consenso para el factor de transcripción AP2β [21]. La combinación de este SNP con el cambio funcional del promotor anteriormente descrito genera cuatro alelos principales: el alelo L_A , de alta actividad transcripcional, y los alelos L_G , S_A y S_G , que muestran unos niveles transcripcionales más bajos y una menor actividad serotoninérgica [21,22].

Además del 5-HTTLPR, se ha abordado el estudio de otros polimorfismos localizados en el gen *SLC6A4*. Entre ellos destaca una variación en el número de repeticiones en tándem localizada en el intrón 2 (STin2), que parece actuar como un intensificador durante el desarrollo embrionario. Además, también se ha estudiado la relación entre otros SNP y diferentes enfermedades, como el autismo [23] y los trastornos afectivos [24,25].

En conjunto, estos resultados nos animaron a investigar con mayor profundidad el efecto del gen *SLC6A4* en la vulnerabilidad a padecer AA en pacientes psicóticos. En este estudio se ha examinado la existencia de asociación entre varios marcadores del gen *SLC6A4* y la esquizofrenia con AA, así como la asociación con diferentes parámetros que evalúan, entre otras, la dimensión emocional de las AA.

Sujetos y métodos

Muestra

Se incluyeron 224 pacientes con AA y 346 controles no emparentados de similares características, todos ellos sujetos de etnia caucásica del área de Valencia y con una edad y distribución de sexos similar en ambos grupos. Los criterios de exclusión que se consideraron fueron, en el caso de los pacientes, incoherencia del lenguaje y/o incapacidad para entender las preguntas del evaluador; y, en el caso de los controles, presencia de antecedentes familiares de enfermedades psiquiátricas. Los pacientes provenían del Hospital Clínico Universitario de Valencia y dieron su consentimiento informado para participar en este estudio, que ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universitat de València.

Los datos clínicos retrospectivos de cada paciente se contrastaron con la información procedente de informes clínicos y de familiares. Según criterios del DSM-IV, 188 pacientes sufrían esquizofrenia, 12 padecían desorden esquizoafectivo, un individuo presentaba trastorno delirante, 11 sufrían otros trastornos psicóticos, tres presentaban depresión y nueve trastorno bipolar. Todos los pacientes presentaban al menos un año de evolución de la enfermedad y estaban bajo tratamiento antipsicótico en el momento de la evaluación.

Las alucinaciones auditivas se evaluaron mediante la escala para la valoración de los síntomas psicóticos (PSYRATS) [26,27]. Esta escala estandarizada recoge 11 parámetros relacionados con las AA, que se puntúan en una escala de 5 puntos: frecuencia, duración, localización, intensidad, creencias sobre el origen de las voces, frecuencia de AA de contenido negativo, intensidad de las AA de contenido negativo, frecuencia de la ansiedad, intensidad de la ansiedad, repercusión y grado de control sobre las voces.

Genotipado

El ADN genómico de cada individuo se extrajo de sangre periférica de acuerdo con procedimientos estándares.

Se seleccionaron diferentes polimorfismos (Tabla I) de la base de datos *Single Nucleotide Polymorphism database* de acuerdo con diferentes criterios: existencia de hallazgos previos, localización, datos de frecuencia y posible implicación funcional. Concretamente, los polimorfismos 5-HTTLPR y STin2 fueron considerados de interés por afectar a la funcionalidad del gen. Además, el SNP rs2228673 es

un cambio no sinónimo con posibles implicaciones funcionales. El cambio rs3813034 se localiza en un sitio de poliadenilación [28], mientras que rs1042173 parece afectar a una secuencia intensificadora del procesado. Los SNP restantes se estudiaron por su relación previa con el autismo [23,29].

Los SNP se genotiparon mediante ensayos de restricción, y los genotipos del STin2 y el 5-HTTLPR se determinaron por reacción en cadena de la polimerasa según la metodología descrita con anterioridad (Tabla I). Se reanalizó una submuestra de pacientes y controles para cada polimorfismo para confirmar la calidad y fiabilidad del genotipado inicial, y se observó una coincidencia del 99%.

Métodos estadísticos

Se usó la aplicación QUANTO v. 1.2.3 [30] para calcular el poder estadístico de nuestro estudio. Se estimó que el poder estadístico oscilaba entre 0,4 y 0,99, dependiendo del riesgo asumido para cada polimorfismo y de las frecuencias alélicas.

Previamente al análisis, los genotipos de 5-HTTLPR se agruparon de acuerdo con el nivel de actividad detectado en estudios previos [21,22]: 'alta expresión' (L_A/L_A), 'expresión media' (L_A/L_G , L_A/S_A y L_A/S_G) y 'baja expresión' (L_G/L_G , L_G/S_A , L_G/S_G , S_A/S_G , S_A/S_A y S_G/S_G).

Además, se verificó que todos los polimorfismos estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg tanto en la muestra de controles como en la de pacientes, mediante un test de tipo χ^2 implementado en el programa Haploview v. 3.4 [31].

Se examinó la existencia de diferencias en las frecuencias alélicas entre pacientes y controles mediante el programa Unphased, v. 3.0.12 [32]. Por otra parte, se usó la aplicación SNPStats [33] para comparar las distribuciones genotípicas entre grupos, así como para estudiar la posible relación entre los polimorfismos y los ítems de la escala PSYRATS. Este programa usa la regresión logística para las comparaciones de casos y controles, y calcula un valor de *odds ratio* como indicador del riesgo asociado a cada genotipo. El mismo programa también lleva a cabo un análisis de regresión lineal para estudiar la presencia de asociaciones con variables cuantitativas. Además, durante los análisis se testaron diferentes modelos de herencia. Todos los valores de significación se enmendaron mediante la corrección de Bonferroni secuencial para comparaciones múltiples [34]. El programa Haploview se usó para estimar los valores de desequilibrio de ligamiento D' y r^2 [31] y para determinar la existencia de bloques de desequilibrio de ligamiento de

Tabla I. Polimorfismos del gen *SLC6A4* analizados en este estudio.

Polimorfismo	Localización	RFLP	Cebadores ^a
5-HTTLPR (44 bp VNTR + rs25531 A/G)	Promotor	<i>Hpa</i> II (para rs25531)	F 5'TCCTCCGCTTTGGCGCCTCTTCC3' R 5'TGGGGTTGACAGGGAGATCCTG3'
rs2066713 C/T	Exón 1A	<i>Bfm</i> I	F 5'CTCTGAGAACACACGTTGCC 3' R 5'CACAGGTGTGAGACACCATGC 3'
rs2020936 T/C	Exón 1A	<i>Eco</i> 31I	F 5'ACCACTGACTACCAAGTTCAG3' R 5'CACCAGGCAATGTCACTCAGC 3'
STin2 17 bp VNTR (9, 10, 12 repeticiones)	Intrón 2	—	F 5'GTCAGTATCACAGGCTGCGAG3' R 5'TGTTCTAGTCTTACGCCAGTG 3'
rs2020942 A/G	Intrón 2	<i>Hpa</i> II	F 5'ATCTCTGCTCCAGGAGACTC3' R 5'TGGTGTCTCTGGATCTTG3'
rs2228673 C(Asp)/G(Lys)	Exón 4	<i>Sac</i> I	F 5'GGCCTGGAGTCTTGGATGG3' R 5'GTTCCAGTGTCCAGGAGCT3'
rs1042173 T/G	3'UTR	<i>Acs</i> I	F 5'CATGGTAGACTGTGACACAGC3' R 5'CTCACAAAGCTTGATGACAC3'
rs3813034 G/T	3'UTR	<i>Tru</i> II	F 5'TGCTGGAATCTACTAGAACCCTC3' R 5'TCCAATAAACCTCCATACACA3'

F: cebador directo; R: cebador reverso; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*; UTR: región no traducida; VNTR: variación del número de repeticiones en tándem. ^aLa amplificación de 5-HTTLPR, STin2 y rs3813034 se realizó usando los cebadores diseñados previamente por otros autores [28,48,49].

acuerdo con criterios descritos con anterioridad [35]. Además, el análisis de haplotipos (estimación de frecuencias y comparación entre grupos) se realizó mediante el programa Unphased [32].

Finalmente, es necesario remarcar que los análisis de asociación se realizaron considerando la muestra completa de 224 pacientes con AA, pero también se llevaron a cabo en una muestra más pequeña que incluía únicamente 188 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia según criterios del DSM-IV.

Resultados

Puntuaciones de la escala PSYRATS

La tabla II muestra los valores medios obtenidos por los pacientes para cada ítem de la escala PSYRATS. Trece pacientes no pudieron ser evaluados mediante la escala PSYRATS.

Análisis de desequilibrio de ligamiento

El SNP rs2228673 fue monomórfico en nuestra muestra, por lo que el análisis estadístico se realizó con

Tabla II. Valores medios de la escala PSYRATS de alucinaciones auditivas. Se muestran los resultados referentes a la muestra completa de pacientes con alucinaciones auditivas, así como los resultados correspondientes a la submuestra que incluía únicamente a aquellos pacientes diagnosticados como esquizofrénicos según los criterios del DSM-IV.

	Puntuaciones de la escala PSYRATS (media \pm error estándar de la media)											
	Puntuación total	Frecuencia	Duración	Localización	Intensidad	Creencias sobre el origen	Frecuencia del contenido negativo	Intensidad del contenido negativo	Frecuencia de la ansiedad	Intensidad de la ansiedad	Repercusión	Grado de control
Psicóticos con AA (n = 211)	17,51 \pm 1,08	1,75 \pm 0,12	1,71 \pm 0,12	1,53 \pm 0,11	1,30 \pm 0,09	1,77 \pm 0,12	1,64 \pm 0,11	1,61 \pm 0,11	1,41 \pm 0,11	1,42 \pm 0,11	1,49 \pm 0,10	1,89 \pm 0,12
Esquizofrénicos con AA (n = 176)	18,41 \pm 1,18	1,88 \pm 0,13	1,80 \pm 0,13	1,59 \pm 0,12	1,35 \pm 0,10	1,86 \pm 0,13	1,70 \pm 0,13	1,66 \pm 0,13	1,49 \pm 0,12	1,48 \pm 0,12	1,60 \pm 0,11	2,00 \pm 0,14

AA: alucinaciones auditivas; DSM-IV: *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, cuarta edición*; PSYRATS: escala para la valoración de los síntomas psicóticos.

los polimorfismos restantes. Asimismo, la baja frecuencia del alelo de nueve repeticiones del VNTR STin2 (0,009 en sujetos control) nos llevó a excluir de todos los análisis a los individuos portadores de este alelo. El SNP rs2020936 estaba, además, fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg en controles ($p = 0,043$, valor no corregido).

Se observaron dos bloques de desequilibrio de ligamiento. Uno de ellos incluía los cuatro polimorfismos localizados en los intrones 1A y 2 (los valores de r^2 entre rs2066713 y rs2020942 oscilaban entre 0,96 y 0,91), mientras que los dos SNP localizados en la región 3' no traducida conformaron un segundo bloque ($r^2 = 0,95$ tanto en pacientes como en controles). El polimorfismo 5-HTTLPR mostró los valores más bajos de r^2 y D' cuando se comparó con el resto de polimorfismos.

Análisis de asociación de casos y controles

No se encontraron diferencias significativas al comparar las frecuencias alélicas de pacientes y controles. Con respecto a las frecuencias genotípicas, el SNP rs2020936 mostró ligeras diferencias entre ambos grupos cuando se consideró la muestra completa de pacientes con AA ($p = 0,019$) y también al comparar la submuestra de pacientes esquizofrénicos con AA con la muestra de sujetos control ($p = 0,026$). Estas diferencias desaparecieron al aplicar la corrección de Bonferroni secuencial.

El análisis de haplotipos reveló la existencia, tanto en pacientes como en controles, de siete haplotipos comunes de siete marcadores (frecuencia $> 0,03$), que representaban el 90% de todas las combinaciones posibles. Posteriores análisis mostraron

que no había diferencias significativas al comparar pacientes y controles.

Análisis de asociación con los parámetros de la escala PSYRATS

La tabla III muestra los resultados de los análisis de asociación con la escala PSYRATS de alucinaciones auditivas sobre la muestra completa de 224 pacientes con AA. Brevemente, los pacientes con genotipos de baja expresión para el 5-HTTLPR puntuaron significativamente más alto en los ítems 'intensidad de la ansiedad' y 'repercusión'. Además, los SNP rs2066713 y rs2020942 se asociaron con el parámetro 'localización'. En el caso de la submuestra de pacientes esquizofrénicos, los pacientes con genotipos de baja expresión para el 5-HTTLPR tuvieron una puntuación global significativamente más alta ($p = 0,032$), y también para los ítems 'intensidad de la ansiedad' ($p = 0,006$), 'repercusión' ($p = 0,0092$), 'frecuencia de la ansiedad' ($p = 0,013$), 'frecuencia' ($p = 0,033$) y 'duración' ($p = 0,036$).

Tras la corrección para comparaciones múltiples, sólo la asociación del polimorfismo 5-HTTLPR con la 'intensidad de la ansiedad' permanecía significativa. La tabla IV muestra los resultados detallados del análisis de asociación entre el polimorfismo funcional 5-HTTLPR y los parámetros correspondientes a la dimensión emocional de las AA.

Discusión

En el presente estudio hemos analizado varios polimorfismos situados en el gen *SLC6A4*, y el resul-

Tabla III. Valores de *p* sin corregir obtenidos de los estudios de asociación entre los siete polimorfismos y los ítems de la escala PSYRATS cuando se considera la muestra completa de pacientes con alucinaciones auditivas.

	Puntuación total	Frecuencia	Duración	Localización	Intensidad	Creencias sobre el origen	Frecuencia del contenido negativo	Intensidad del contenido negativo	Frecuencia de la ansiedad	Intensidad de la ansiedad	Repercusión	Grado de control
5-HTTLPR	0,058 (D)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,014 (D)	0,007 (D)	0,009 (D)	ns
rs2066713	ns	ns	ns	0,046 (A)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
rs2020936	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
STin2	ns	ns	ns	0,051 (A)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
rs2020942	ns	ns	ns	0,039 (A)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
rs1042173	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
rs3813034	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

El modelo que mejor se ajusta se indica entre paréntesis. A: aditivo, que considera que cada copia del alelo menos frecuente modifica el riesgo; D: dominante, que agrupa el heterocigoto con el homocigoto de menor frecuencia; ns: no significativo ($p > 0,05$); PSYRATS: escala para la valoración de los síntomas psicóticos.

Tabla IV. Análisis de asociación entre el 5-HTTLPR y los ítems emocionales de la escala PSYRATS. Se muestran los resultados para la muestra completa de pacientes con alucinaciones auditivas.

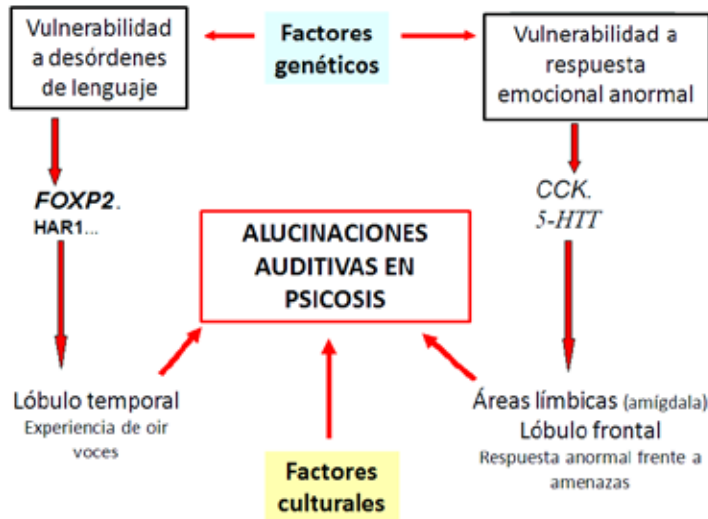
Genotipo 5-HTTLPR	Puntuaciones de la escala PSYRATS (media \pm error estándar de la media)			
	Puntuación total de la PSYRATS	Frecuencia de la ansiedad frente a las AA	Intensidad de la ansiedad frente a las AA	Repercusión de las voces
Genotipos de alta expresión ^a ($n = 43$)	15,49 \pm 2,47	1,26 \pm 0,23	1,33 \pm 0,24	1,30 \pm 0,24
Genotipos de expresión intermedia ^a ($n = 99$)	16,34 \pm 1,54	1,22 \pm 0,16	1,15 \pm 0,15	1,30 \pm 0,24
Genotipos de baja expresión ^a ($n = 69$)	20,43 \pm 1,88	1,81 \pm 0,20	1,83 \pm 0,20	1,87 \pm 0,18
<i>p</i>	0,058 (ns corregido)	0,014 (ns corregido)	0,007 ^b (0,049 corregido)	0,009 ^b (0,06 corregido)

AA: alucinaciones auditivas; ns: no significativo ($p > 0,05$); PSYRATS: escala para la valoración de los síntomas psicóticos. ^aLos genotipos se agrupan dependiendo del número de alelos de alta expresión (L_A) y baja expresión (L_G , S_A y S_G); ^bLos valores de *p* indicados se corresponden con un modelo de herencia que compara el grupo genotípico de baja expresión con los otros dos grupos (el programa SNPStats encontró que este modelo era el más probable). Los valores de *p* corregidos se indican entre paréntesis.

tado más interesante ha sido la asociación entre el polimorfismo 5-HTTLPR y la 'intensidad de la ansiedad' frente a las AA. También se ha encontrado una tendencia al estudiar otros dos parámetros relacionados con la respuesta emocional a las AA ('frecuencia de la ansiedad' y 'repercusión'). Como consecuencia de nuestros resultados en este campo, hemos desarrollado un posible modelo [4] que nos permite elaborar una explicación de la etiopatogénesis de las AA (Figura). En este modelo se

consideran diferentes vías, siendo la primera la vulnerabilidad a los trastornos del lenguaje. La vulnerabilidad de esta primera vía podría deberse, por ejemplo, a cambios en el gen *FOXP2* [7], el primer gen que se ha relacionado con un trastorno del lenguaje [36]. En segundo lugar, los aspectos culturales pueden, a su vez, influenciar el contenido y el ajuste social de las voces. Finalmente, la última vía es el tema central del presente trabajo: la vulnerabilidad a respuestas emocionales anormales. Esta

Figura. Posible modelo para explicar la vulnerabilidad a las alucinaciones auditivas. En primer lugar, existiría una vulnerabilidad a trastornos del lenguaje relacionada con el gen *FOXP2*, entre otros, y relacionada, a su vez, con el lóbulo temporal, incrementando la posibilidad de oír voces. En segundo lugar, existiría una vulnerabilidad a respuestas emocionales aberrantes relacionadas con el polimorfismo del promotor del gen del transportador de serotonina (*SLC6A4* o *5-HTT*) y que implicarían a áreas frontales y límbicas, lo que incrementaría, a su vez, la posibilidad de respuesta emocional anormal frente a las voces. Finalmente, los factores culturales son, a su vez, importantes en relación con el contenido y el ajuste social de las voces.



disfunción emocional puede desempeñar un papel crucial en la esquizofrenia, como se ha demostrado en trabajos previos que han asociado las AA con estados emocionales negativos [37]. Tenemos razones para apoyar el papel del procesamiento emocional en la fisiopatología de las AA. Nuestro grupo ha diseñado un paradigma de resonancia magnética funcional de tipo auditivo-emocional, con el objetivo de provocar estados emocionales comparables a los experimentados por los pacientes con AA [13]. Con este paradigma, se observa una activación exacerbada de áreas límbicas y frontales en pacientes con alucinaciones persistentes como respuesta a palabras emocionales. Pero es también necesario estudiar la genética de las AA. Hasta donde llega nuestro conocimiento, muy pocos estudios han examinado la genética de las alucinaciones en pacientes psicóticos [38-40]. Asimismo, hasta el momento había un único trabajo [38] que había analizado el gen *SLC6A4* y las AA en la psicosis. En este caso, el alelo *l* del 5-HTTLPR se asoció con la intensidad de las alucinaciones. Sin embargo, en nuestro estudio no hemos encontrado ninguna asociación con la dimensión física de las AA. Nuestra hipótesis es que

el gen *SLC6A4* podría estar controlando la respuesta emocional a las alucinaciones auditivas, pero no otras dimensiones. En apoyo de esta hipótesis, hemos encontrado una asociación entre los alelos de baja expresión del 5-HTTLPR y la 'intensidad de la ansiedad' de los pacientes con AA, así como una tendencia hacia la asociación con el ítem 'repercusión'. Es importante remarcar que los parámetros 'intensidad de la ansiedad' y 'repercusión' están directamente relacionados con la respuesta emocional frente a las AA. Otro dato de interés es que los resultados fueron similares tanto en la muestra completa de pacientes como en la submuestra de pacientes esquizofrénicos, lo que sugiere que el gen *SLC6A4* está relacionado con el fenómeno alucinatorio propiamente dicho, independientemente del tipo de psicosis padecida.

El alelo *s* de baja expresión se ha descrito como una variante de riesgo para trastornos afectivos [25,41]. Además, nuestro hallazgo es también coherente con nuestro trabajo preliminar [6], donde se encontraron asociaciones significativas entre el alelo *s* del 5-HTTLPR y los parámetros de la escala PSYRATS de AA que evaluaban la respuesta emocional. Las aproximaciones de neuroimagen funcional también son de gran interés. Se ha visto que el alelo *s* producía una mayor activación de la amígdala en respuesta a estímulos amenazadores en una muestra de sujetos sanos [19], así como una mayor activación de la amígdala en pacientes con fobia social [42] y desorden de pánico [43] y sujetos sanos con tendencia a padecer fobias [44]. Además, en un trabajo muy preliminar hemos encontrado asociación entre el alelo *s* y una mayor activación de la amígdala en respuesta a palabras de contenido emocional [45]. También se ha relacionado el gen *SLC6A4* con la vulnerabilidad al estrés ambiental. Caspi et al [20] encontraron que el alelo *s* del 5-HTTLPR predisponía a padecer depresión como respuesta a eventos vitales. Desde entonces, estos resultados se han replicado y los estudios con modelos animales también apoyan estos hallazgos [46,47]. A la luz de todo esto, podemos sostener la hipótesis de que el polimorfismo 5-HTTLPR, junto con otros factores, podría estar modulando el desarrollo y función de aquellos circuitos neurobiológicos relacionados con el procesamiento de estímulos emocionales, lo que llevaría a una respuesta emocional diferencial dependiente del genotipo para este polimorfismo.

Aunque este trabajo presenta ciertas limitaciones (debido al tamaño muestral reducido y a la existencia de otros genes relacionados con la respuesta emocional), este estudio es de interés, pues con-

tribuye a la investigación de las psicosis desde una nueva aproximación, que hemos llamado 'deconstrucción del síntoma' y que permite el estudio de los sistemas neurobiológicos implicados en los síntomas más específicos de las psicosis.

En resumen, la variación genética en el *locus SLC6A4* modula la dimensión emocional de las AA. Nuestro modelo tiene relevancia tanto para la etiología de las AA como para su tratamiento terapéutico. Sería, por tanto, de gran interés realizar nuevos estudios integradores de neuroimagen y genética para poder apoyar con más fuerza el papel del gen del transportador de la serotonina en la etiología de las AA en la psicosis.

Bibliografía

1. Braff DL, Freedman R, Schork NJ, Gottesman II. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophr Bull* 2007; 33: 21-32.
2. Cuesta MJ, Ugarte MD, Goicoa T, Eraso S, Peralta V. A taxometric analysis of schizophrenia symptoms. *Psychiatry Res* 2007; 150: 245-53.
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4 ed (DSM-IV). Washington DC: APA; 1995.
4. Sanjuán J. Etiopatogenia de las alucinaciones auditivas en las psicosis. *Rev Neurol* 2006; 43: 280-6.
5. González JC, Aguilar EJ, Berenguer V, Leal C, Sanjuán J. Persistent auditory hallucinations. *Psychopathology* 2006; 39: 120-5.
6. Sanjuán J, Rivero O, Aguilar EJ, González JC, Moltó MD, De Frutos R, et al. Serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and emotional response to auditory hallucinations in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2006; 9: 131-3.
7. Sanjuán J, Tolosa A, González JC, Aguilar EJ, Pérez-Tur J, Nájera C, et al. Association between FOXP2 polymorphisms and schizophrenia with auditory hallucinations. *Psychiatr Genet* 2006; 16: 67-72.
8. García-Martí G, Aguilar EJ, Lull JJ, Martí-Bonmatí L, Escartí MJ, Manjón JV, et al. Schizophrenia with auditory hallucinations: a voxel-based morphometry study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 72-80.
9. Goetz CG, Burke PE, Leurgans S, Berry-Kravis E, Blasucci LM, Raman R, et al. Genetic variation analysis in Parkinson disease patients with and without hallucinations: a case-control study. *Arch Neurol* 2001; 58: 209-13.
10. Wang J, Zhao C, Chen B. Polymorphisms of dopamine receptor and transporter genes and hallucinations in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2004; 355: 193-6.
11. Rosenthal D, Quinn OW. Quadruplet hallucinations. Phenotypic variations of a schizophrenic genotype. *Arch Gen Psychiatry* 1977; 34: 817-27.
12. Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 13-23.
13. Sanjuán J, Lull JJ, Aguilar EJ, Martí-Bonmatí L, Moratal D, González JC, et al. Emotional words induce enhanced brain activity in schizophrenic patients with auditory hallucinations. *Psychiatry Res* 2007; 154: 21-9.
14. Schinka JA, Busch RM, Robichaux-Keene N. A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and trait anxiety. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 197-202.
15. Levinson DF. The genetics of depression: a review. *Biol Psychiatry* 2006; 60: 84-92.
16. Li D, He L. Meta-analysis supports association between serotonin transporter (5-HTT) and suicidal behavior. *Mol Psychiatry* 2007; 12: 47-54.
17. Fan JB, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene S'In2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 928-38.
18. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; 274: 1527-31.
19. Hariri AR, Mattay VS, Tessitore A, Kolachana B, Fera F, Goldman D, et al. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* 2002; 297: 400-3.
20. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, et al. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 2003; 301: 386-9.
21. Kraft JB, Slager SL, McGrath PJ, Hamilton SP. Sequence analysis of the serotonin transporter and associations with antidepressant response. *Biol Psychiatry* 2005; 58: 374-81.
22. Hu XZ, Lipsky RH, Zhu G, Akhtar LA, Taubman J, Greenberg BD, et al. Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 815-26.
23. McCauley JL, Olson LM, Dowd M, Amin T, Steele A, Blakely RD, et al. Linkage and association analysis at the serotonin transporter (SLC6A4) locus in a rigid-compulsive subset of autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004; 127: 104-12.
24. Battersby S, Ogilvie AD, Blackwood DH, Shen S, Muqit MM, Muir WJ, et al. Presence of multiple functional polyadenylation signals and a single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human serotonin transporter gene. *J Neurochem* 1999; 72: 1384-8.
25. Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: I. Affective disorders. *Mol Psychiatry* 2003; 8: 574-91.
26. Haddock G, McCarron J, Tarrier N, Faragher EB. Scales to measure dimensions of hallucinations and delusions: the Psychotic Symptom Rating Scales (PSYRATS). *Psychol Med* 1999; 29: 879-89.
27. González JC, Sanjuán J, Cañete C, Echanove MJ, Leal C. Evaluation of auditory hallucinations: the PSYRATS scale. *Actas Esp Psiquiatr* 2003; 31: 10-7.
28. Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmor AJ, Goodwin GM, et al. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* 1996; 347: 731-3.
29. Kim SJ, Cox N, Courchesne R, Lord C, Corsello C, Akshoomoff N, et al. Transmission disequilibrium mapping at the serotonin transporter gene (SLC6A4) region in autistic disorder. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 278-88.
30. Gauderman WJ, Morrison JM. QUANTO 1.1: a computer program for power and sample size calculations for genetic-epidemiology studies. URL: <http://hydra.usc.edu/gxe>. [30.11.2006].
31. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 2005; 21: 263-5.
32. Dudbridge F. UNPHASED user guide. Cambridge: MRC Biostatistics Unit; 2006.
33. Solé X, Guinó E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006; 22: 1928-9.
34. Rice WR. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 1989; 43: 223-5.
35. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002; 296: 2225-9.

36. Vargha-Khadem F, Gadian DG, Copp A, Mishkin M. FOXP2 and the neuroanatomy of speech and language. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 131-8.
37. Aguilar EJ, Leal C, Acosta FJ, Cejas MR, Fernández L, Gracia R. A psychopathological study of a group of schizophrenic patients after attempting suicide. Are there two clinical subtypes? *Eur Psychiatry* 2003; 18: 190-2.
38. Malhotra AK, Goldman D, Mazzanti C, Clifton A, Breier A, Pickar D. A functional serotonin transporter (5-HTT) polymorphism is associated with psychosis in neuroleptic-free schizophrenics. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 328-32.
39. Wei J, Hemmings GP. The CCK-A receptor gene possibly associated with auditory hallucinations in schizophrenia. *Eur Psychiatry* 1999; 14: 67-70.
40. Tachikawa H, Harada S, Kawanishi Y, Okubo T, Suzuki T. Linked polymorphisms (-333G>T and -286A>G) in the promoter region of the CCK-A receptor gene may be associated with schizophrenia. *Psychiatry Res* 2001; 103: 147-55.
41. Cervilla JA, Rivera M, Molina E, Torres-González F, Bellón JA, Moreno B, et al. The 5-HTTLPR s/s genotype at the serotonin transporter gene (SLC6A4) increases the risk for depression in a large cohort of primary care attendees: the PREDICT-gene study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141: 912-7.
42. Furmark T, Tillfors M, Garpenstrand H, Marteinsdottir I, Langström B, Orelund L, et al. Serotonin transporter polymorphism related to amygdala excitability and symptom severity in patients with social phobia. *Neurosci Lett* 2004; 362: 189-92.
43. Domschke K, Braun M, Ohrmann P, Suslow T, Kugel H, Bauer J, et al. Association of the functional -1019C/G 5-HT1A polymorphism with prefrontal cortex and amygdala activation measured with 3 T fMRI in panic disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2005; 9: 349-55.
44. Bertolino A, Arciero G, Rubino V, Latorre V, De Candia M, Mazzola V, et al. Variation of human amygdala response during threatening stimuli as a function of 5-HTTLPR genotype and personality style. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 1517-25.
45. Sanjuán J, Lull JJ, Rivero O, Martí-Bonmatí L, Aguilar EJ, García G, et al. Serotonin transporter genetic variation modulates amygdala reactivity to emotional stimuli in patients with schizophrenia. *Schizophr Bull* 2007; 33: 383.
46. Bennett AJ, Lesch KP, Heils A, Long JC, Lorenz JG, Shoaif SE, et al. Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 118-22.
47. Champoux M, Bennett A, Shannon C, Higley JD, Lesch KP, Suomi SJ. Serotonin transporter gene polymorphism, differential early rearing, and behavior in rhesus monkey neonates. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 1058-63.
48. Melke J, Westberg L, Landen M, Sundblad C, Eriksson O, Baghei F, et al. Serotonin transporter gene polymorphisms and platelet [3H] paroxetine binding in premenstrual dysphoria. *Psychoneuroendocrinology* 2003; 28: 446-58.
49. Wendland JR, Martin BJ, Kruse MR, Lesch KP, Murphy DL. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 224-6.

Serotonin transporter gene polymorphisms and auditory hallucinations in psychosis

Introduction. To study the role of the serotonin transporter gene (*SLC6A4*) in the emotional processing of auditory hallucinations it can be particularly important to better understand the pathophysiology of auditory hallucinations. Moreover, a polymorphism located in this gene (5-HTTLPR) has been previously associated with different disorders related to altered emotional responses. The aim of this study was to evaluate the relationship between different polymorphisms of the *SLC6A4* gene and different aspects of auditory hallucinations in schizophrenic patients, with a special consideration toward the emotional response to auditory hallucinations.

Subjects and methods. Two samples of 224 patients with auditory hallucinations and 346 healthy subjects were studied. AH were assessed in patients through the PSYRATS scale for auditory hallucinations. Several polymorphisms located within the *SLC6A4* gene were analysed through case-control comparisons as well as association analyses with different parameters of auditory hallucinations.

Results. No differences were found between patients and controls for any of the analysed polymorphisms ($p > 0.05$). However, the evaluation of auditory hallucinations parameters showed that the low expressing alleles of the 5-HTTLPR polymorphism were associated with higher levels of intensity of the distress caused by auditory hallucinations ($p = 0.049$ corrected for the item 'intensity of distress'). There was also a trend with the parameter 'disruption' ($p = 0.06$ corrected). These two items of the PSYRATS scale are directly related to the emotional dimension of auditory hallucinations. In contrast, we did not observe any association with items related to other dimensions of auditory hallucinations.

Conclusions. Our results support a possible role of the serotonin transporter in the emotional response to auditory hallucinations.

Key words. Auditory hallucinations. Emotional response. Genetic polymorphisms. Psychosis. Serotonin transporter. *SLC6A4*.