

EL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA: VARIANTES GENÉTICAS Y TRASTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS

(Serotonin transporter: Gene variants and neuropsychiatric disorders)

Pablo R. Moya

Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias
Universidad de Valparaíso, Chile

RESUMEN

El gen *SLC6A4* codifica el transportador de serotonina *SERT*. Desde el descubrimiento del rol de polimorfismos del gen *SLC6A4* – que codifica *SERT*– en el comportamiento humano (1), se ha recabado una gran cantidad de información respecto al rol de variantes de *SLC6A4* en trastornos neuropsiquiátricos y otras patologías, así como de sus implicancias farmacogenómicas (2). En esa breve revisión, se discuten los principales descubrimientos acerca de variantes de *SLC6A4*, su impacto funcional y sus roles sugeridos en trastornos neuropsiquiátricos y de neurodesarrollo.

Palabras Claves: serotonina, 5-HT, *SERT*, 5-HTTLPR

Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile

SEROTONINA Y SERT

5-HT es un neuromodulador monoaminérgico que controla una plétora de procesos fisiológicos y comportamientos, incluyendo emocionalidad, sueño, locomoción, percepción, cognición, agresión, conducta sexual y apetito. Tal notable diversidad de roles puede explicarse, a grueso modo, por dos características clave del sistema 5-HTérgico: a) su organización anatómica, donde los cuerpos neuronales 5-HTérgicos, agrupados en los núcleos del Rafe del tronco encefálico, se proyectan a virtualmente todas las regiones del sistema nervioso, y b) la diversidad molecular y distribución celular diferencial de los catorce subtipos de receptores de 5-HT, expresados en el tejido nervioso y otros órganos (3).

SERT es una proteína clave del sistema 5-HTérgico que regula la disponibilidad del neuromodulador en la sinapsis. *SERT* pertenece al grupo de transportadores neuronales de membrana de sustrato específico Na^+/Cl^- dependiente, perteneciente a la familia de genes *SLC6*. Al recapturar 5-HT, y así regular la magnitud y alcance de las respuestas al neurotransmisor, *SERT* participa en el ajuste fino de las

sinapsis 5-HTérgicas cerebrales, así como en sus acciones periféricas. Interesantemente, la mayor expresión de *SERT* se encuentra en regiones corticales y límbicas implicadas en comportamiento y estados emocionales (2).

Los inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs) son fármacos que bloquean *SERT*, tales como paroxetina, sertralina, citalopram y escitalopram. Los SSRIs constituyen el frente de batalla del tratamiento antidepresivo, y están dentro de los fármacos más prescritos para enfermedades neuropsiquiátricas (2, 4). Al bloquear *SERT*, los SSRIs aumentan la disponibilidad de 5-HT y su acción sobre receptores de 5-HT, gatillando una serie compleja – y aun no completamente entendida– de cambios moleculares que subyacen a su eficacia antidepresiva, que incluyen desensibilización del transportador y receptores, cambios a nivel de transducción de señal, activación de neurotrofinas y neurogénesis (5). Debido a esto, *SERT* se ha convertido en uno de los blancos moleculares más explotados en farmacoterapia.

Correspondencia a: Dr. Pablo R. Moya, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Av. Gran Bretaña 1111, Playa-Ancha, Valparaíso, Chile. Teléfono: 56-32-2508039. Correo Electrónico: pablo.moya@uv.cl

VARIACIONES GENÉTICAS DE *SLC6A4*

El gen humano *SLC6A4*, que codifica SERT, es una región de ~40 Kb, localizado en el cromosoma 17q11.2 y se compone de catorce exones (Figura 1). La secuencia de su transcrito predice una proteína de 630 aminoácidos contiene doce dominios transmembrana (4).

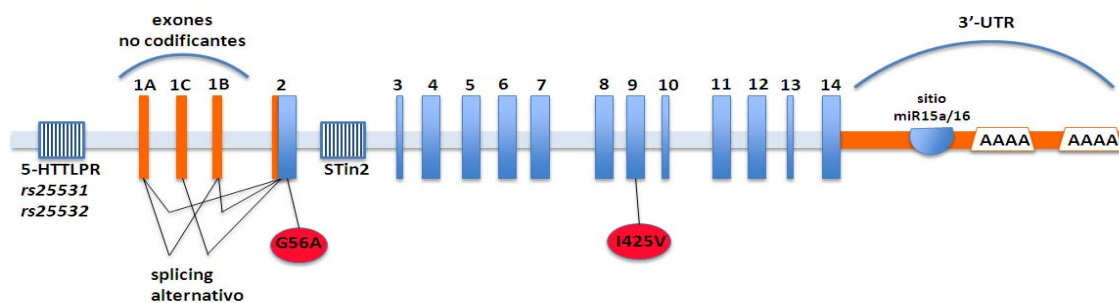
Variantes del promotor de *SLC6A4*: El primer reporte de un polimorfismo en la región 5' de *SLC6A4* fue descrita el año 1996 (6); los autores denominaron a este polimorfismo como la "región polimórfica asociada al transportador de serotonina (*5-HT Transporter-Linked Polymorphic Region*, 5-HTTLPR). 5-HTTLPR consiste de una inserción de 44 bp (*long*, L) o su eliminación (*short*, S) dentro de una serie de elementos repetitivos localizados ~1kb río arriba del sitio de inicio de transcripción. Los alelos L y S del 5-HTTLPR tienen distintas eficiencias transcripcionales, siendo S comparativamente menos eficaz que L. Cuando los mismos autores descubrieron que el alelo S del 5-HTTLPR estaba asociado con rasgos de personalidad relacionados a ansiedad y depresión, se produjo un avance importantísimo en el área de la genética psiquiátrica (1). Se ha demostrado que el 5-HTTLPR afecta la expresión de SERT por diversas metodologías, incluyendo experimentos con genes reporteros, el uso de radioligandos de SERT en linfoblastos, plaquetas y tejido cerebral post-mortem, mediciones cronoamperométricas de 5-HT extracelular, así como también con estudios de imagenología en humanos midiendo potencial de unión de ligandos en cerebro (2, 6, 7). En los últimos años, el 5-HTTLPR ha sido refinado en detalle: el 2006, Hu y colaboradores demostraron que el alelo G del SNP *rs25531*, que se presenta casi siempre en fase con el alelo L del 5-HTTLPR, atenúa la actividad transcripcional (8). En 2008, Wendland, Moya y colaboradores demostraron que el alelo T del SNP *rs25532*, disminuye aún más la actividad del 5-HTTLPR/*rs25531* (9).

Splicing alternativo: Los exones 1A, 1B y 1C son exones no codificantes los cuales, vía un mecanismo de *splicing* alternativo, regulan la expresión tejido-específica de SERT. La variante de *splicing* que posee solamente el exón 1A dirige la expresión preferencial en tejido del sistema nervioso central (SNC) y medula adrenal; las variantes 1A y 1A+1B son expresadas a niveles similares en corazón y estómago, mientras que la variante 1C es primordialmente expresada en tejido digestivo y tiene una muy baja expresión en corazón (10).

Variante intrónica: Consiste en una repetición en tándem de número variable (*variable number of tandem repeats*, VNTR) de un elemento de 16-17 bp, presente en el intrón 2 de *SLC6A* (STin2). Este polimorfismo presenta los alelos STin2.12, STin2.10 y STin2.9, determinados por el número de repeticiones, y modifican la expresión de SERT de manera directamente proporcional al largo del VNTR (11). Este efecto diferencial ha sido demostrado que ocurre por la alteración de la respuesta a los factores de transcripción YB-1 y CTCF (11, 12).

Señales de poliadenilación: Existen dos señales de poliadenilación en la región 3' no traducida de *SLC6A4*, localizadas a 567 pares de bases (bp) y 690 bp río abajo del codón de término, y su uso diferencial define dos RNA mensajeros de distinto largo. Cabe mencionar que estos dos sitios de poliadenilación también son encontrados en ratón (*Mus musculus*) con un altísimo grado de similitud de secuencia, sugiriendo un rol evolutivo conservado (12, 13). Se ha descrito que el polimorfismo de nucleótido único (*single nucleotide polymorphism*, SNP) *rs3813034* modifica la tasa relativa de uso entre estas dos señales, donde el alelo G reduce el uso de la señal de poliadenilación más distal (14). Notablemente, *rs3813034* ha sido asociado a trastorno de pánico, siendo los portadores del alelo G los que presentan un riesgo aumentado (15).

Figure 1. Diagrama de la estructura genética de *SLC6A4* y las principales variantes genéticas descritas en el texto.



Muy recientemente, se demostró que uno de los roles funcionales que posee la señal de poliadenilación distal de SERT es su interacción con la ribo proteína heteronuclear K (16).

Sitio de unión a microRNA: En 2010, Baudry y colaboradores encontraron que miR-16 es un regulador post-transcripcional de SERT en ratones (17). Moya y colaboradores replicaron este resultado, y demostraron que miR-16, así como también miR-15a son represores funcionales de la expresión de SERT en células humanas y de rata (18). Cabe mencionar que los niveles de miR-16 pueden ser regulados por el SSRI fluoxetina, sugiriendo que este – y quizás otros- microRNA puede ser un efector central que regule los cambios neuroadaptativos inducidos por los antidepresivos (17). No ha sido explorado aún el efecto de fluoxetina sobre miR-15a, ni tampoco si su efecto regulatorio sobre miR-16 es un mecanismo común de todos los SSRI. Cabe destacar que este sitio de unión a miR-15a/16 está localizado muy próximo a uno de los sitios de poliadenilación, por lo que resultaría muy interesante explorar las consecuencias funcionales a nivel de expresión de SERT, a nivel combinatorio, del uso alternativo de señales de poliadenilación respecto a la actividad regulatoria mediada por microRNAs.

VARIANTES NO-SINÓNIMAS (CODIFICANTES) EN *SLC6A4*

Se han descrito variantes no-sinónimas e infrecuentes de SERT en Trastorno Obsesivo-Compulsivo (*Obsessive-Compulsive Disorder*, OCD), síndrome de Tourette, autismo y depresión.

Una mutación que cambia el aminoácido Isoleucina en la posición (inferida) 425 (de SERT por Valina fue detectada originalmente en dos familias distintas que presentaban OCD y enfermedades relacionadas (19). SERT I425V se localiza en la región trans-membrana TM8 (inferida), y ha sido sugerido que la mutación modifica la estructura secundaria de hélice alfa, afectando el transporte. La caracterización funcional de esta mutación demostró que SERT I425V otorga un aumento de función, y esto ocurre por cambios en la regulación por cGMP y óxido nítrico, doblando el transporte normal de 5-HT (19, 20). Este descubrimiento es particularmente relevante desde la perspectiva fisiopatológica, puesto que dicha hiperfuncionalidad de SERT se ajusta bien a la hipótesis 5-HTérgica de OCD, y con el hecho que los inhibidores de recaptura de serotonina constituyen la única farmacoterapia disponible para OCD.

En un trabajo recientemente publicado, Moya y colaboradores detectaron SERT I425V en una familia con síndrome de Tourette, una patología de neurodesarrollo que posee características comunes con OCD.

Colectivamente, considerando como condición el espectro OCD/síndrome de Tourette, se tiene que a la fecha SERT I425V ha sido detectado en 1.57% de los casos, mientras que la población control, sólo tres individuos de un total de 1958 genotipados son portadores de la mutación ($X^2=15.03$, $P<0.0001$, $OR=9.0$)(21).

El SNP *rs6355* cambia la Glicina en posición (inferida) 65 por Alanina (G65A). Esta variante ha sido encontrada de manera sistemática en pacientes con autismo. Cabe destacar que G65A ha sido asociada a rasgos rígido-compulsivo, lo que sugiere una superposición fenotípica con OCD, así como un posible nexo común con alteraciones en la señalización 5-HTérgica (22).

La mutación SERT L255M cambia el aminoácido Leucina en posición 255 (inferida) por Metionina. Esta mutación fue encontrada en un paciente con depresión psicótica, que además poseía el genotipo SS para el 5-HTTLPR (23). No existe información funcional para esta mutación, probablemente por el hecho que fue encontrada en tan solo un paciente, y que la posición 255 predice que el cambio ocurre en un loop extracelular, lejos de sitios de glicosilación y fosforilación descritos en SERT.

IMPLICANCIAS DE LAS VARIANTES GENÉTICAS DE *SLC6A4* EN TRASTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS

Dada su participación en una amplia gama de procesos fisiológicos, no es extraño que las alteraciones del sistema 5-HTérgico estén implicadas en la fisiopatología de muchos trastornos neuropsiquiátricos. Como se mencionó anteriormente, la investigación original de Lesch y colaboradores demostró que la expresión y función reducidas de SERT, que resultan del alelo S del 5-HTTLPR, están asociadas a rasgos de personalidad relacionados a ansiedad y depresión(1). A partir de este trabajo seminal, se ha acumulado una cantidad enorme de información a partir de estudios que implican al 5-HTTLPR en trastornos neuropsiquiátricos (al 23/09/2013, la búsqueda en Pubmed de “5-HTTLPR psychiatry” arroja 600 publicaciones).

Varias de las asociaciones iniciales de variantes de *SLC6A4* con trastornos neuropsiquiátricos han sido replicadas posteriormente en meta-análisis, específicamente de trastorno bipolar afectivo (24), esquizofrenia(25), autismo(26), adicción, depresión y ansiedad (27), OCD (28-30) y déficit atencional con trastorno de hiperactividad (31). Existen otros trastornos y enfermedades que se han descrito estar asociados a variantes de *SLC6A4*, incluyendo síndrome de muerte súbita infantil, migraña, enfermedades musculoesqueléticas, infarto al miocardio, hipertensión pulmonar, y trastorno de colon irritable (2, 4, 7). Sin embargo, la inmensa mayoría de los estudios han investigado el 5-HTTLPR “clásico”, descuidando el efecto que poseen *rs25531* y *rs25532* sobre la actividad de este

locus, lo que puede explicar la ausencia de replicación de los resultados iniciales en algunos estudios posteriores (2).

CONCLUSIONES

La contribución genética al temperamento humano y a rasgos comportamentales, tales como consumo de alcohol, dominancia y ansiedad, han sido establecidas en humanos y otras especies, lo que refleja muy probablemente fuerzas selectivas en nuestros ancestros. Como se ha descrito en esta revisión, el 5-HTTLPR es un elemento regulatorio de alta flexibilidad (y baja complejidad) que no debe ser considerado como bi-alélico (S vs L) sino que como tri-alélico (5-HTTLPR/rs25531) y además modulado por rs25532. Actualmente, determinación genética de dichas variantes es de muy bajo costo y no ofrece mayores desafíos técnicos respecto análisis molecular del 5-HTTLPR clásico. Los esfuerzos experimentales, por tanto, deben realizarse hacia el análisis de múltiples variantes de *SLC6A4* de forma simultánea.

El análisis de las variantes genéticas que afectan la expresión y función de SERT permite comprender, al menos en parte, cómo las alteraciones del sistema 5-HTérgico influyen el riesgo a trastornos afectivos y comportamentales. Es importante mencionar que dicho riesgo ocurre fundamentalmente a través de interacciones genético-ambientales, cuyo análisis está fuera del objetivo de esta revisión.

BIBLIOGRAFÍA:

1. 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 Nov 29;274(5292):1527-31. PubMed PMID: 8929413.
2. Murphy DL, Moya PR. Human serotonin transporter gene (SLC6A4) variants: their contributions to understanding pharmacogenomic and other functional GxG and GxE differences in health and disease. *Current opinion in pharmacology*. 2011 Feb;11(1):3-10. PubMed PMID: 21439906. Pubmed Central PMCID: 3487694.
3. Baumgarten HG, Göthert M, Aghajanian GK. Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS. Berlin ; New York: Springer; 1997. xxx, 767 p. p.
4. Murphy DL, Moya PR, Wendland JR, Timpano KR. Genetic contributions to obsessive-compulsive disorder (OCD) and OCD-related disorders In: Nurnberger J, Berrettini W, editors. *Principles of Psychiatric Genetics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2012. p. 121-33.
5. Carr GV, Lucki I. The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies. *Psychopharmacology*. 2011 Feb;213(2-3):265-87. PubMed PMID: 21107537. Pubmed Central PMCID: 3374933.
6. Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, et al. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of neurochemistry*. 1996 Jun;66(6):2621-4. PubMed PMID: 8632190.
7. Murphy DL, Lesch KP. Targeting the murine serotonin transporter: insights into human neurobiology. *Nature reviews Neuroscience*. 2008 Feb;9(2):85-96. PubMed PMID: 18209729.
8. 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. *American journal of human genetics*. 2006 May;78(5):815-26. PubMed PMID: 16642437. Pubmed Central PMCID: 1474042.
9. Wendland JR, Moya PR, Kruse MR, Ren-Patterson RF, Jensen CL, Timpano KR, et al. A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associates with obsessive-compulsive disorder. *Human molecular genetics*. 2008 Mar 1;17(5):717-23. PubMed PMID: 18055562.
10. Ozsarc N, Santha E, Hoffman BJ. Alternative non-coding exons support serotonin transporter mRNA expression in the brain and gut. *Journal of neurochemistry*. 2002 Jul;82(2):336-44. PubMed PMID: 12124434.
11. MacKenzie A, Quinn J. A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999 Dec 21;96(26):15251-5. PubMed PMID: 10611371. Pubmed Central PMCID: 24806.
12. Ali FR, Vasilou SA, Haddley K, Paredes UM, Roberts JC, Miyajima F, et al. Combinatorial interaction between two human serotonin transporter gene variable number tandem repeats and their regulation by CTCF. *Journal of neurochemistry*. 2010 Jan;112(1):296-306. PubMed PMID: 19860858. Pubmed Central PMCID: 2848977.
13. Gyawali S, Subaran R, Weissman MM, Hershkowitz D, McKenna MC, Talati A, et al. Association of a polyadenylation polymorphism in the serotonin transporter and panic disorder. *Biological psychiatry*. 2010 Feb 15;67(4):331-8. PubMed PMID: 19969287. Pubmed Central PMCID: 2980348.
14. 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. *Journal of neurochemistry*. 1999 Apr;72(4):1384-8. PubMed PMID: 10098839.
15. Hartley CA, McKenna MC, Salman R, Holmes A, Casey BJ, Phelps EA, et al. Serotonin transporter polyadenylation polymorphism modulates the retention of fear extinction memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012 Apr 3;109(14):5493-8. PubMed PMID: 22431634. Pubmed Central PMCID: 3325655.
16. Yoon Y, McKenna MC, Rollins DA, Song M, Nuriel T, Gross SS, et al. Anxiety-associated alternative polyadenylation of the serotonin transporter mRNA confers translational regulation by hnRNP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013 Jul 9;110(28):11624-9. PubMed PMID: 23798440. Pubmed Central PMCID: 3710847.
17. Baudry A, Mouillet-Richard S, Schneider B, Launay JM, Kellermann O. miR-16 targets the serotonin transporter: a new facet for adaptive responses to antidepressants. *Science*. 2010 Sep 17;329(5998):1537-41. PubMed PMID: 20847275.
18. Moya PR, Wendland JR, Salemme J, Fried RL, Murphy DL. miR-15a and miR-16 regulate serotonin transporter expression in human placental and rat brain raphe cells. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2013 Apr;16(3):621-9. PubMed PMID: 22564678. Epub 2012/05/09. eng.

19. Ozaki N, Goldman D, Kaye WH, Plotnicov K, Greenberg BD, Lappalainen J, et al. Serotonin transporter missense mutation associated with a complex neuropsychiatric phenotype. *Molecular psychiatry*. 2003 Nov;8(11):933-6. PubMed PMID: 14593431.
20. Prasad HC, Zhu CB, McCauley JL, Samuvel DJ, Ramamoorthy S, Shelton RC, et al. Human serotonin transporter variants display altered sensitivity to protein kinase G and p38 mitogen-activated protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005 Aug 9;102(32):11545-50. PubMed PMID: 16055563. Pubmed Central PMCID: 1183547.
21. Moya PR, Wendland JR, Rubenstein LM, Timpano KR, Heiman GA, Tischfield JA, et al. Common and rare alleles of the serotonin transporter gene, SLC6A4, associated with Tourette's disorder. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2013 Aug;28(9):1263-70. PubMed PMID: 23630162. Pubmed Central PMCID: 3766488.
22. Prasad HC, Steiner JA, Sutcliffe JS, Blakely RD. Enhanced activity of human serotonin transporter variants associated with autism. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*. 2009 Jan 27;364(1514):163-73. PubMed PMID: 18957375. Pubmed Central PMCID: 2674096.
23. Di Bella D, Catalano M, Balling U, Smeraldi E, Lesch KP. Systematic screening for mutations in the coding region of the human serotonin transporter (5-HTT) gene using PCR and DGGE. *American journal of medical genetics*. 1996 Nov 22;67(6):541-5. PubMed PMID: 8950411.
24. Cho HJ, Meira-Lima I, Cordeiro Q, Michelon L, Sham P, Vallada H, et al. Population-based and family-based studies on the serotonin transporter gene polymorphisms and bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. *Molecular psychiatry*. 2005 Aug;10(8):771-81. PubMed PMID: 15824745.
25. Fan JB, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Molecular psychiatry*. 2005 Oct;10(10):928-38, 891. PubMed PMID: 15940296.
26. Kistner-Griffin E, Brune CW, Davis LK, Sutcliffe JS, Cox NJ, Cook EH, Jr. Parent-of-origin effects of the serotonin transporter gene associated with autism. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2011 Mar;156(2):139-44. PubMed PMID: 21302342. Pubmed Central PMCID: 3438509.
27. Wray NR, James MR, Gordon SD, Dumenil T, Ryan L, Coventry WL, et al. Accurate, Large-Scale Genotyping of 5HTTLPR and Flanking Single Nucleotide Polymorphisms in an Association Study of Depression, Anxiety, and Personality Measures. *Biological psychiatry*. 2009 Sep 1;66(5):468-76. PubMed PMID: 19541292. Pubmed Central PMCID: 3060567.
28. Stewart SE, Mayerfeld C, Arnold PD, Crane JR, O'Dushlaine C, Fagerness JA, et al. Meta-analysis of association between obsessive-compulsive disorder and the 3' region of neuronal glutamate transporter gene SLC1A1. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2013 Jun;162B(4):367-79. PubMed PMID: 23606572.
29. Taylor S. Molecular genetics of obsessive-compulsive disorder: a comprehensive meta-analysis of genetic association studies. *Molecular psychiatry*. 2013 Jul;18(7):799-805. PubMed PMID: 22665263.
30. Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Rosario MC, Pittenger C, Leckman JF. Meta-analysis of the symptom structure of obsessive-compulsive disorder. *The American journal of psychiatry*. 2008 Dec;165(12):1532-42. PubMed PMID: 18923068.
31. Gizer IR, Ficks C, Waldman ID. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Human genetics*. 2009 Jul;126(1):51-90. PubMed PMID: 19506906.