

DIFERENCIAS DEL METABOLISMO EN ESTRUCTURAS LÍMBICAS DE ACUERDO A LA VARIACIÓN ALÉLICA DEL POLIMORFISMO 5HTTLPR DEL GEN AL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA: UN ESTUDIO PILOTO CON PET¹

Grupo Genética Psiquiátrica, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente^{a,b},
Grupo PET-Ciclotrón, Universidad Nacional Autónoma de México^{**}

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente.

^a Laboratorio de Neurofisiología Integrativa, Subdirección de Neurociencias.

^b Laboratorio de Genética, Subdirección de Investigaciones Clínicas.

Universidad Nacional Autónoma de México.

* Facultad de Medicina, Unidad PET-Ciclotrón.

^{**}Departamento de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular.

SUMMARY

Serotonergic neurotransmitter system seems to be a promising candidate for a biological marker in psychiatry since has been involved in the pathogenesis of various neuropsychiatry disorders, like affective disorders. The target site of action of some antidepressant drugs such fluoxetine is the serotonin (5HT) transporter (5HTT). The function of 5HTT is the reuptake of the serotonin released in the synaptic cleft and determines the magnitude and duration of the postsynaptic receptor-mediated signaling, thus playing a pivotal role in the fine-tuning of 5HT neurotransmission.

A functional polymorphism in promoter region of the 5HTT-(5HTTLPR) gene (SLC6A4) has been shown to modulate the 5HTT reuptake capacity, brain 5HTT binding sites and 5HTT mRNA quantity. The activity of the promoter region of the 5HTT gene is dependent of two allelic variants (long; L and short; S). Cultured lymphoblast homozygous for the L allele (L/L) has higher concentration of 5HTT mRNA and express nearly twofold greater 5HT reuptake compared with cells with either one (L/S) or two copies (S/S) of the S allele.

In vivo human brain studies quantifying binding levels of 5HTT

using SPECT have shown heterogeneous results between L/L, L/S or S/S carriers. Control S carriers subjects have less available 5HTT in the raphe than homozygous to L allele. No differences in the diencephalons, thalamus, hypothalamus and mesencephalon-pons regions have been shown.

Behavioral studies have associated individual's carries of S allele more likely to present mood disorders, anxiety-related personality traits, acquired conditioned fear responses and impulsive behavior.

Functional brain imaging techniques have frequently implicated in the processing of these behaviors and disorders fronto-cortical and limbic structures. Recently has been explored the functional temporal amygdala neural activity, assessed by functional magnetic resonance imaging, in response to fearful stimuli in healthy subjects. Those carriers of S allele exhibit greater amygdala activity.

To our knowledge, no study, has evaluated the differences of basal brain metabolism among the 5HTTLPR genotype. The propose of this preliminary study, was to compare the basal metabolic activity, obtained by positron emission tomography (PET), in fronto-cortical and limbic structures of non-psychiatric patients, to sustain differences in the basal neural activity among homozygous to this functional polymorphism.

¹Trabajo que obtuvo el primer lugar en el II Concurso de Carteles en la categoría de Clínica. XVIII Reunión de Investigación del INPRF. Septiembre 2003.

Autor Responsable:

Ariel Graff-Guerrero, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Subdirección de Neurociencias (Lab. Neurofisiología-Integrativa). Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370, México, DF. Mexico. Tel: (52) 56552811 Ext. 250; Fax: (52) 56559980; e-mail: agraff@imp.edu.mx (ariel_graff@hotmail.com).

Grupo PET-Ciclotrón, Universidad Nacional Autónoma de México:

Ariel Graff-Guerrero^a, Erick Alexanderson-Rosas^a, Javier Altamirano-Ley^a, Gisela Estrada-Sánchez^a, Diana Gómez-Martín^a, Juan Carlos Méndez^a, Adolfo Zárate-Morales^a, Armando Flores-Moreno^a, Fred López-Durán^a, Blanca Flores-Castillo^a, Rene Drucker-Colín^{**}, Juan Ramón de la Fuente^{*}.

Grupo Genética Psiquiátrica, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente:

Ariel Graff-Guerrero^a, Camilo de la Fuente-Sandoval^b, Beatriz Camarena-Medellín^b, Alejandro Aguilar-García^b, Ana Fresán-Orellana^b, Rogelio Apiquián^b y Humberto Nicolini^b.

In this study we performed PET scans with (18)F-fluorodeoxyglucose (FDG) as radiotracer in 14 non-psychiatrically ill individuals (screened by SCID-I, RV). All subjects were genotyped for the *SLC6A4*. The comparison groups were constituted as follows: S/S (n=8) vs. L/L (n=6). The analysis of PET images was performed using SPM2 software considering as significant only those limbic regions with a p-corrected < 0.01 and cluster of at least 10 voxels. In a secondary analysis a correlation between the metabolic activity of the areas with main differences among groups were performed.

We found a significant increase of brain metabolism in those S/S individuals vs. L/L homozygous subjects in the following areas: left and right Fusiform Gyrus (Brodmann Area (BA) 37 and 19 respectively) (T = 5.11, p < 0.001; T = 5.05, p < 0.001 respectively). Left anterior cerebellum (T = 5.70, p < 0.001). Right superior Parietal and right posterior Cingulate (BA 7 and 31) (T = 8.03, p < 0.001 both). Left anterior Cingulate (BA 42) (T = 3.04, p < 0.01). Left Caudate (T = 4.03, p < 0.001). Left and right superior Frontal Gyrus (BA 8 and 9) (T = 3.66, p < 0.01 and T = 4.54, p < 0.001, respectively). Right inferior Frontal Gyrus (BA 47) (T = 4.47, p < 0.001). Right and left Amygdale (BA 38) (T = 4.16, p < 0.001 and T = 3.75, p < 0.01, respectively). Left superior Temporal Gyrus (BA 29) (T = 3.82, p < 0.01). In contrast those areas where we found an increased metabolism of those L/L individuals vs. S/S were: Left middle Frontal Gyrus (BA 8 and 9) (T = 3.38, p < 0.01) and right superior Frontal Gyrus (BA 9) (T = 2.93, p < 0.01).

The correlation analysis showed higher correlation coefficients among limbic structures in the S/S groups than in the L/L group. Right Amygdale - Left Amygdale (S/S = 0.541 vs. L/L = 0.101); Left Amygdale - Left anterior Cingulate (S/S = 0.722 vs. L/L = 0.475); Left anterior Cingulate - Right posterior Cingulate (S/S = 0.720 vs. L/L = -0.094); Right Amygdale - Left anterior Cingulate (S/S = 0.867 vs. L/L = 0.610); Right Amygdale - Right posterior Cingulate (S/S = 0.586 vs. L/L = -0.246).

Our results shows differences in basal metabolism between homozygous individuals to alleles S and alleles L of the 5HTTLPR. A major basal metabolism in limbic system, like anterior and posterior cingulate and amygdale, and also other structures like fusiform gyri, dorsolateral prefrontal cortex and superior temporal cortex was found in homozygotes to S allele. On the contrary, homozygote subjects to L allele presented a greater metabolism on bilateral frontal structures.

The selective increase in basal metabolism found in our results could reflect an "hyperexcitability state" of these structures, with a larger repercussion to stimulus with an emotional meaning in S/S subjects in comparison to the L/L ones. This would support a major susceptibility in these subjects to develop an anxiety-depression spectrum disorder.

The observed correlation between regions, shows a greater functional coupling (connectivity) between limbic structures (both amygdalae, anterior and posterior cingulate) in S/S in comparison to L/L subjects. There is also a correlation between limbic and cortical structures (frontal, bilateral and left fusiform). This could explain that, in S/S individuals, any sensorial afference could induce an important effect on structures involved in emotional processing (frontal and limbic) making, these individuals prone to the development of affective disorders.

Both, the structure and the global cerebral functioning (endophenotypes) are determined by interactions between genetic information and environment. However, genes can determine or promote a conduct in some environments, specially if we consider

that they can promote susceptibility for some conduct (intelligence, personality traits, psychopathology, etc). The study of the association between a "determined brain metabolism" or endophenotype and an allelic variant (gene), can contribute to know more about the susceptibility of an individual to develop a determined conduct or disorder.

Our results could propose an endophenotype (cerebral metabolism) associated with the expression of the allelic variants of the 5-HTTLPR that could be a useful marker of susceptibility for the disorders associated with this genotype.

We conclude that there are several differences in basal brain metabolism according to the genetic variation in the *SLC6A4* polymorphism and the cerebral pattern of activation is more widely distributed in the S/S carrier subjects. These results could help to explain the role of serotonin system in the liability to specific temperament traits or psychiatric disorders.

Key words: Serotonin, PET, limbic, brain metabolism, SLC6A4.

RESUMEN

El sistema serotoninérgico es considerado como uno de los principales sistemas involucrados en el desarrollo de diversos trastornos psiquiátricos. El gen en humanos que codifica para el transportador de serotonina (5HTT) se denomina SLC6A4 y se encuentra localizado en el cromosoma 17q12.2. Se ha descrito un polimorfismo funcional en la región promotora del gen (5HTTLPR), el cual confiere una actividad transcripcional diferencial alelo-dependiente, determinada por sus dos variantes alélicas: larga o L y corta o S. Desde la perspectiva conductual, se ha asociado a los individuos portadores del alelo S con una mayor susceptibilidad para presentar trastornos del afecto, personalidad con rasgos ansiosos y aumento en la respuesta condicionada al miedo.

Estudios *in vivo* en humanos, para cuantificar los sitios de unión al 5HTT han mostrado una menor disponibilidad del 5HTT en el rafe mesencefálico de sujetos portadores del alelo S. Sin encontrar diferencias en regiones corticales. Asimismo, se ha encontrado una mayor reactividad amigdalina, ante estímulos afectivos, en los portadores del alelo S. Hasta el momento, ningún estudio ha evaluado las diferencias en el metabolismo cerebral basal de acuerdo al genotipo HTTLPR. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad metabólica basal mediante Tomografía por Emisión de Positrones (PET) entre sujetos homocigotos al alelo funcional S o L. Esto para determinar las regiones con mayor o menor metabolismo (actividad) de acuerdo a la variante alélica. Se incluyeron 14 sujetos sin enfermedad psiquiátrica (criterios DSM-IV) a los cuales se les realizó un PET cerebral con (18)F-fluorodeoxiglucosa. Todos fueron genotipados para el gen HTTLPR. Las imágenes de PET de los sujetos S/S (n=8) y L/L (n=6) se seleccionaron para su comparación voxel a voxel mediante un análisis de covarianza. Se utilizaron como covariables la puntuación de las subescalas de ansiedad y depresión del SCL-90. Se consideró *a priori* como significativas aquellas regiones límbicas con una p-corregida < 0.01 con al menos 10 voxeles por grupo (clusters). Además se realizó un análisis de conectividad *en donde se correlacionó* (coeficiente de Pearson) el metabolismo regional entre las áreas cerebrales límbicas con mayores diferencias en el análisis de covarianza.

Las regiones en donde el grupo S/S presentó un metabolismo mayor que el grupo L/L son: Giro fusiforme izquierdo y derecho, lóbulo anterior del cerebelo izquierdo, parietal superior derecho y

cíngulo posterior derecho, cíngulo anterior izquierdo, cuerpo del núcleo caudado izquierdo, giro frontal superior izquierdo y derecho, giro frontal inferior derecho, amígdala temporal izquierda y derecha, giro temporal superior izquierdo. Por otro lado las regiones en donde el grupo L/L presentó mayor metabolismo con respecto al S/S son: giro frontal medio izquierdo y giro frontal superior derecho. El análisis de conectividad entre estructuras límbicas presentó coeficientes de correlación más elevados en el grupo S/S en comparación al L/L.

Nuestros resultados muestran la presencia de diferencias en el metabolismo basal entre los sujetos homocigotos al alelo S y L. El análisis de conectividad muestra mayor acoplamiento en la actividad metabólica de las estructuras límbicas en los sujetos homocigotos al alelo S. Esto pudiera explicar la mayor susceptibilidad de los S/S para presentar trastornos del espectro depresivo-ansioso. Se propone un posible endofenotipo (metabolismo cerebral) asociado a la expresión de las variantes alélicas del 5-HTTLPR que podría servir como marcador de susceptibilidad para los trastornos que se han asociado a este genotipo.

Palabras clave: Serotonina, Tomografía por Emisión de Positrones, límbico, metabolismo cerebral, SLC6A4.

INTRODUCCIÓN

El sistema serotoninérgico es un buen candidato para desarrollar marcadores biológicos en psiquiatría (1). Esto debido a que se le ha involucrado en la patogénesis de diversos trastornos mentales (2), como los trastornos afectivos (3, 4). El sitio de acción de algunos antidepresivos, como la fluoxetina, es el transportador de serotonina (5HTT). La función del 5HTT es recapturar a la serotonina liberada en la hendidura sináptica, determinando la duración y la magnitud sobre el receptor postsináptico. Por lo tanto tiene un papel primordial en la regulación de la neurotransmisión serotoninérgica (5HT) (5, 6).

Un polimorfismo funcional en la región del promotor del gene (SLC6A4) para el 5HTT (5HTTLRP) ha mostrado propiedades de modular la capacidad de recaptura del 5HTT, determinar la afinidad de sitios cerebrales de unión y la cantidad de RNA mensajero (RNAm) para el 5HTT (7, 8). La actividad del 5HTTLRP es dependiente de dos variantes alélicas (larga; L y corta; S). El estudio de cultivo de linfoblastos homocigotos para el alelo L (L/L) ha mostrado una mayor concentración de RNAm del 5HTT y expresan el doble de transportador comparado con células con una copia (L/S) o dos (S/S) del alelo S (7).

Estudios *in vivo* en humanos, mediante la técnica de tomografía por emisión de fotón único (SPECT) para cuantificar los sitios de unión al 5HTT han mostrado resultados heterogéneos entre sujetos L/L, L/S y S/S. Heinz y cols. (9), reportaron una menor disponibilidad del 5HTT en el rafe mesencefálico de sujetos porta-

dores del alelo S. Jacobsen y cols. (10) no encontraron diferencias en el diencefalo y Willeit y cols. (11) tampoco encontraron diferencias en las regiones tálamo-hipotalámicas ni en las mesencéfalo-protuberanciales. Asimismo, Shioe y cols. (12) mediante la técnica de tomografía por emisión de positrones (PET) con un ligando de alta afinidad para 5HTT, no encontraron diferencias en la región del tálamo.

Desde la perspectiva conductual, se ha asociado a los individuos portadores del alelo S con una mayor susceptibilidad para presentar trastornos del afecto (4, 13, 14), de personalidad con rasgos ansiosos (7, 15, 16), aumento en la respuesta condicionada al miedo (17) y comportamiento impulsivo (18).

Las técnicas de imágenes cerebrales funcionales han relacionado, de forma constante, estas conductas con el funcionamiento de las estructuras fronto-corticales y límbicas (19-23). Recientemente Hariri y cols. (24) exploraron la función de la amígdala temporal, mediante Resonancia Magnética funcional (RMf), en la respuesta al miedo. Encontraron que en sujetos sanos, portadores del alelo S, se presenta una mayor respuesta vascular en esta región en contraste con los L/L.

Hasta el momento, ningún estudio ha evaluado las diferencias en el metabolismo cerebral basal de acuerdo al genotipo HTTLPR. El objetivo de este estudio fue comparar la actividad metabólica basal de las regiones fronto-corticales y límbicas, mediante PET; en sujetos sin enfermedad psiquiátrica y homocigotos al alelo funcional S o L.

MATERIALES Y MÉTODO

Sujetos

Se incluyeron sujetos sin enfermedad psiquiátrica, referidos a la Unidad de PET-Ciclotrón, UNAM. Los sujetos fueron tamizados para descartar la presencia de enfermedad psiquiátrica mediante una entrevista clínica psiquiátrica y la aplicación del instrumento "Listado de Síntomas-90" (SCL-90) (25). Los sujetos con algún diagnóstico psiquiátrico en el eje I, de acuerdo al Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, versión IV revisada (DSM-IV-TR) (26) fueron excluidos. Asimismo también fueron excluidos aquellos sujetos con una puntuación mayor a 2 en cualquiera de las subescalas del SCL-90 (punto de corte con base en Derogatis y cols.) (25). Se obtuvo una muestra de sangre venosa de los pacientes incluidos para ser genotipados (5-HTTLPR) *a posteriori*. En esa misma sesión se les realizó un PET cerebral en condiciones de reposo y privación sensorial parcial. Las características de los pacientes incluidos se muestran en el cuadro 1.

CUADRO 1
Características demográficas y puntuación media en las subescalas del SCL-90 en los grupos S/S y L/L. Las puntuaciones se expresan en media y desviación estándar (DE). NS= no significativo

	S/S Media (DE)	L/L Media (DE)	P
Número de Sujetos	8	6	
Edad (años)	50.8 (15.18)	40.17 (16.67)	NS
Sexo (hombres/mujeres)	6/2	5/1	NS
Subescalas SCL-90			
• Somatización	0.625 (0.422)	0.888 (0.952)	NS
• Obsesivo-compulsivo	0.925 (0.670)	1.283 (0.962)	NS
• Sensibilidad inter.	0.416 (0.399)	0.796 (0.731)	NS
• Depresión	0.442 (0.357)	0.820 (0.670)	NS
• Ansiedad	0.625 (0.411)	0.750 (0.791)	NS
• Hostilidad	0.541 (0.343)	0.638 (0.872)	NS
• Ansiedad fóbica	0.035 (0.071)	0.285 (0.571)	NS
• Ideación paranoide	0.333 (0.272)	0.611 (0.814)	NS
• Psicotismo	0.250 (0.173)	0.533 (0.592)	NS
• Índice general	0.466 (0.257)	0.734 (0.733)	NS

Genotipo (análisis molecular)

El análisis para la obtención de los genotipos se realizó en la Unidad de Genética Molecular del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. De cada uno de los sujetos se obtuvo sangre periférica y se extrajo el DNA genómico mediante el método descrito por Lahiri y Nurnberger (27). Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo la amplificación del polimorfismo 5-HTTLPR en un volumen de reacción de 15 µl conteniendo 1.8 mM MgCl₂, 200 mM de dATP, dCTP y dTTP, 100 mM de dGTP y 7-deaza-dGTP, 1 unidad de AmpliTaq Gold polymerase (AmpliTaq Gold; Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA), 0.25 µM de cada primer (5' GGC GTT GCC GCT CTG AAT TGC y 5' GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC CAC) (28), y 100 ng de DNA genómico.

El método consistió de un paso inicial de desnaturalización de 12 minutos a 95°C, seguido por 40 ciclos constituidos por 30 s a 95°C, 30 s a 62°C y 1 min. a 72°C, con un paso final de 7 min. a 72°C. Los productos de PCR fueron separados en geles de agarosa de bajo punto de fusión al 2% y visualizados con luz UV después de su tinción con bromuro de etidio.

Procedimiento para la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) con fluoro-18 deoxiglucosa (FDG)

Se empleó una cámara PET con sistema de cuerpo completo ECAT EXACT HR+ (Siemens/CTI. Knoxville, TN, USA) en modo tridimensional. Este

sistema cubre un campo axial de 14.5 cm, con 72 cortes axiales, de 2 mm de grosor, con una resolución de 4.5–5.8 mm en dirección transversal y 4.9–8.8 mm en dirección axial (29).

La FDG fue sintetizada en el Departamento de Radiofarmacia de la Unidad PET-Ciclotrón, UNAM. En breve, el Fluor-18 se recibe con kriptofix para hacer una reacción nucleofílica, se evapora con acetonitrilo a 110 grados centígrados. Posteriormente entra en contacto con el triflato de manosa para marcarse y la síntesis finaliza con una hidrólisis con ácido clorhídrico. Se cuenta con un Acelerador RDS-111 con un Campo magnético promedio de 1.2 T y una frecuencia de resonancia de 72 MHz para el marcado del Fluor-18.

Los pacientes estuvieron en ayuno al menos 4 hrs. previas al estudio. Se colocó un catéter en una vena del antebrazo izquierdo de cada sujeto, permaneciendo en estado de relajación en un cuarto libre de estímulos visuales y auditivos 15 minutos antes y 15 minutos después de la administración de 370-555 MBq (10-15 mCi) de FDG. Treinta minutos después se recostó al sujeto en la camilla del equipo de neuroimagen orientando su cabeza en el eje orbitomeatal para iniciar la adquisición del PET y ratificando su correcto posicionamiento mediante una adquisición en emisión de 3 minutos. Posteriormente se realizó una adquisición en emisión de 10 minutos obteniendo 72 cortes axiales. Se realizó una adquisición en transmisión utilizando una fuente de 68Ge/68Ga para la posterior corrección de atenuación. La reconstrucción se realizó en una matriz de 128 x 128 unidades de imagen (píxel) con una amplificación de 2.5, utilizando un método con 6 iteraciones y 16 subsets. Se utilizó un FWHM de 4 mm y un filtro tipo Shepp.

Análisis paramétrico de la imagen

El análisis se realizó con el programa SPM2 (SPM2, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) y MRIcro (por Chris Rorden. Version 1.36).

Las imágenes fueron revisadas visualmente para verificar su calidad. Las imágenes fueron transformadas al sistema de coordenadas de Talairach y Tournoux (30) para su realineación por medio del método de interpolación sincrónica (kernel 9x9x9 voxels). Posteriormente, las imágenes se normalizaron espacialmente utilizando una imagen promedio del total de imágenes para la determinación de parámetros, se utilizó como plantilla la imagen de PET del Instituto Neurológico de Montreal (MNI). La plantilla del MNI utilizada por el SPM2 es similar a la del atlas de Talairach y Tournoux (30). La mayor diferencia entre éstas se encuentra en la porción inferior de los lóbulos temporales (31). La

interpolación se hizo mediante el método bilinear y el tamaño del elemento de volumen (voxel) se fijó en 2x2x2 mm. Las imágenes fueron suavizadas con un valor FWHM de 6x6x6 mm.

Las imágenes fueron analizadas voxel a voxel mediante un análisis de covarianza (ANCOVA) provisto en el programa SPM2. Se utilizaron como grupos las imágenes de los sujetos L/L y S/S, incluyendo como covariables las puntuaciones de las subescalas de depresión y ansiedad del SCL-90.

Se generó un mapa paramétrico T para cada comparación, considerando *a priori* como significativas aquellas regiones con una p-no corregida < 0.01 para las regiones frontocorticales y límbicas. Para el resto de las regiones se consideró como significativa una p-corregida < 0.05. En ambos casos con al menos 10 voxels por grupo (clusters). Los resultados se presentan en el sistemas de coordenadas de Talairach y Tournoux sobrepuestos en la plantilla promedio de RMN en T1 del Instituto Neurológico de Montreal.

Análisis estadístico

Se realizó una comparación entre las variables demográficas como edad, sexo y la puntuación total para cada una de las subescalas del SCL-90 mediante una prueba de Chi-cuadrada para las variables categóricas y T de Student para las variables continuas. La correlación entre la actividad metabólica de las regiones significativas, observadas en el análisis paramétrico de las imágenes, se realizó con el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró como significativa una $p < 0.05$. Los resultados se expresan en media y desviación estándar (DE).

RESULTADOS

La homogeneidad de la muestra clínica se comprobó al no existir diferencias entre las variables demográficas y del SCL-90 entre ambos grupos (cuadro 1).

El grupo S/S presentó un metabolismo mayor que el grupo L/L en las siguientes regiones: Giro fusiforme izquierdo y derecho (Area de Brodmann (AB) 37, 19 y 19, respectivamente) (figura 1 A, B y C) ($T = 5.11$, $p < 0.001$; $T = 5.05$, $p < 0.001$ y $T = 5.05$, $p < 0.001$, respectivamente). Lóbulo anterior del cerebelo izquierdo (figura 1 D) ($T = 5.70$, $p < 0.001$). Parietal superior derecho y cíngulo posterior derecho (figura 1 C y H) (AB 7 y 31) ($T = 8.03$, $p < 0.001$ en ambos casos), en este caso el cluster comprende ambas estructuras. Cíngulo anterior izquierdo (figura 1 E) (AB 42) ($T = 3.04$, $p < 0.01$). Cuerpo del núcleo caudado

izquierdo (figura 1 F) ($T = 4.03$, $p < 0.001$). Giro frontal superior izquierdo y derecho (figura 1 G y H) (AB 8 y 9) ($T = 3.66$, $p < 0.01$ y $T = 4.54$, $p < 0.001$, respectivamente). Giro frontal inferior derecho (figura 1 H) (AB 47) ($T = 4.47$, $p < 0.001$). Amígdala temporal izquierda y derecha (figura 1 J) (AB 38) ($T = 4.16$, $p < 0.001$ y $T = 3.75$, $p < 0.01$, respectivamente). Giro temporal superior izquierdo (figura 1 K) (AB 29) ($T = 3.82$, $p < 0.01$).

Las regiones donde el grupo L/L presentó mayor metabolismo con respecto al S/S fueron: Giro frontal medio izquierdo (figura 2 A y B) (AB 8 y 9) ($T = 3.38$, $p < 0.01$) y giro frontal superior derecho (figura 2 B) (AB 9) ($T = 2.93$, $p < 0.01$). El resumen de los resultados se describen en el cuadro 2, y en la figura 3 se pueden observar las proyecciones ortogonales de ambas comparaciones. La actividad metabólica media para cada una de las regiones donde se presentaron diferencias se muestra en el cuadro 3.

Las regiones en donde se observó mayor metabolismo para el grupo S/S (figura 4A), presentaron correlación para los homocigotos S en las siguientes regiones: amígdala izquierda y cíngulo anterior izquierdo ($r = 0.722$, $p < 0.05$); cíngulo anterior izquierdo y cíngulo posterior derecho ($r = 0.720$, $p < 0.05$); amígdala derecha y cíngulo anterior izquierdo ($r = 0.867$, $p < 0.05$); giro fusiforme izquierdo y cíngulo posterior derecho ($r = 0.842$, $p < 0.05$); giro frontal superior derecho y giro fusiforme derecho ($r = 0.951$, $p < 0.05$). De la misma forma para los homocigotos l se presentó correlación entre el giro fusiforme derecho e izquierdo ($r = 0.782$, $p < 0.05$). Las regiones donde se observó mayor metabolismo para el grupo L/L (figura 4B), presentaron correlación en los homocigotos S y L entre el giro frontal superior derecho e izquierdo ($r = 0.804$, $p < 0.05$ y $r = -0.848$, $p < 0.05$, respectivamente).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados confirman la presencia de diferencias en el metabolismo basal entre los sujetos homocigotos al alelo S y L del 5HTT. Los homocigotos al S presentaron un mayor metabolismo basal en estructuras del sistema límbico como el cíngulo anterior, posterior y la amígdala. También en estructuras corticales como los giros fusiformes, corteza prefrontal dorsolateral y corteza temporal superior. Por el contrario los sujetos homocigotos al l sólo presentaron mayor metabolismo en estructuras frontales bilaterales.

Las regiones cerebrales que presentan mayor metabolismo en los homocigotos al S corresponden a una red de estructuras relacionadas con el reconocimiento,

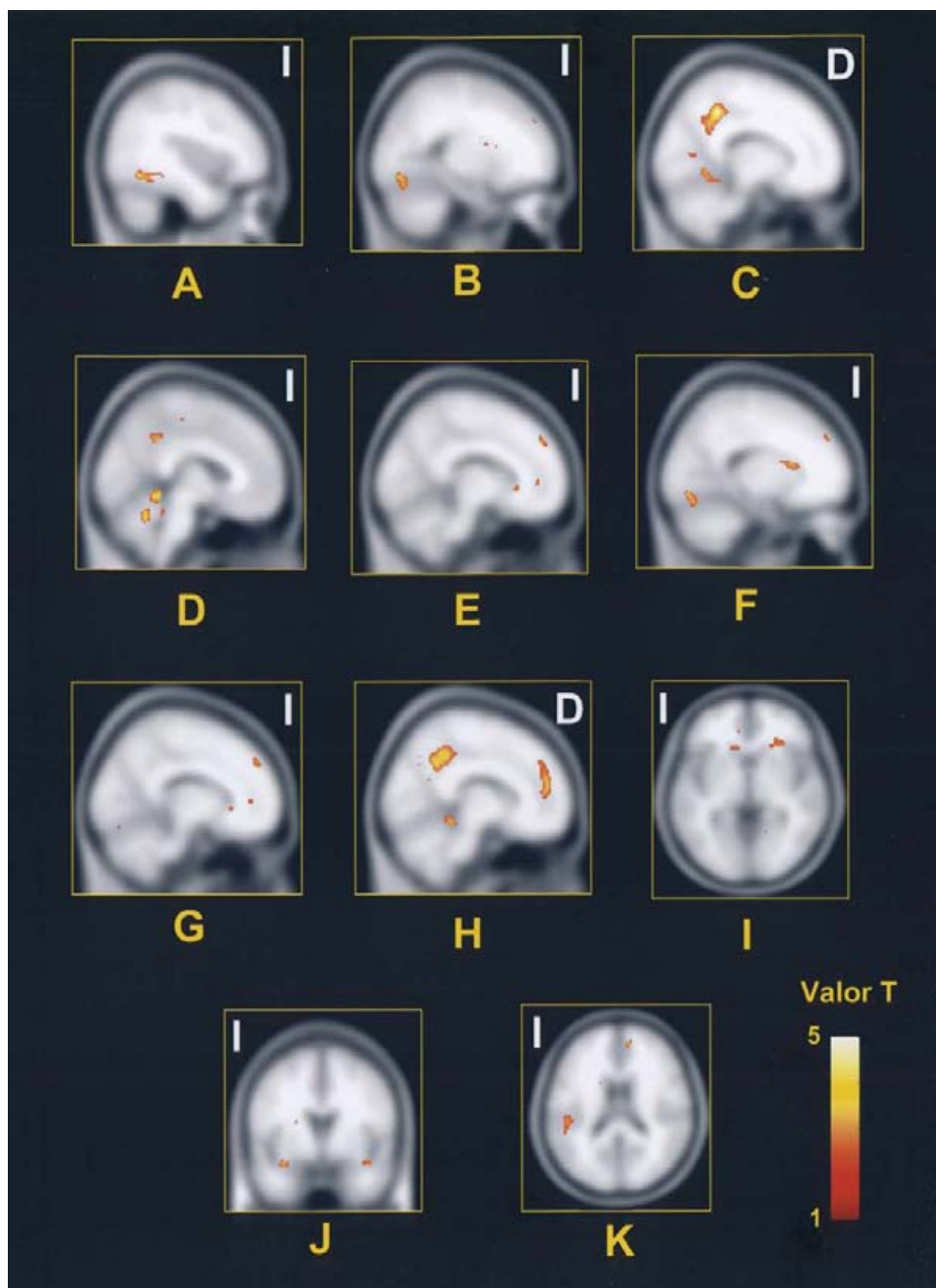


Fig. 1. Regiones con mayor metabolismo en el grupo S/S de acuerdo al análisis de covarianza entre el grupo S/S y L/L. Las proyecciones mostradas son sagitales de A hasta H. La proyección J es coronal y el resto son proyecciones axiales. En las proyecciones axiales, la parte inferior corresponde al polo posterior y en las sagitales la parte derecha corresponde a la región anterior. Las comparaciones se muestran expresadas en valores T. Ver detalles de localización y tamaño del grupo (cluster) en el cuadro 2 y sección de Resultados en el texto. I = Hemisferio izquierdo; D = Hemisferio derecho.

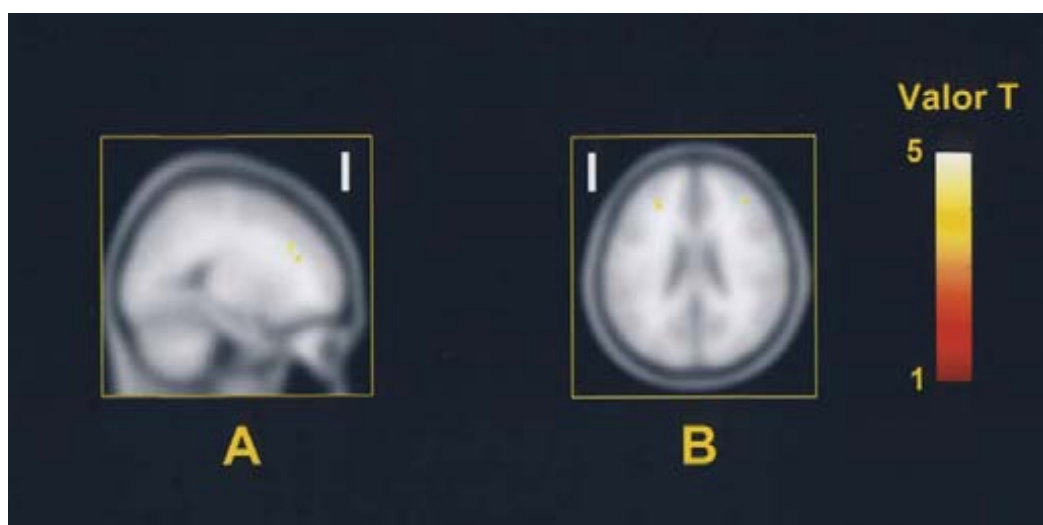


Fig. 2. Regiones con mayor metabolismo en el grupo L/L de acuerdo al análisis de covarianza entre el grupo S/S y L/L. La proyección mostrada en A es sagital y en B es axial. En las proyecciones axiales la parte inferior corresponde al polo posterior y en la sagital la parte derecha corresponde a la región anterior. Las comparaciones se muestran expresadas en valores T. Ver detalles de localización y tamaño del grupo (cluster) en el cuadro 2 y sección de Resultados en el texto. I = Hemisferio izquierdo; D = Hemisferio derecho.

la percepción y la memoria de estímulos visuales (32, 33). Asimismo estas estructuras han sido implicadas con una mayor respuesta vascular a la presencia de estímulos visuales con características emocionales, siendo esta respuesta aún mayor en sujetos portadores del alelo S (24). Además se ha observado un mayor aco-

plamiento en la respuesta vascular entre estructuras subcorticales y visuales ante un estímulo de recompensa (34).

El incremento selectivo del metabolismo basal encontrado en nuestros resultados podría reflejar un estado de “hiperexcitabilidad” en estas estructuras, oca-

CUADRO 2

Resultados del análisis por medio del programa SPM2 donde se muestran las coordenadas y la localización anatómica de los grupos («cluster») de voxels para las regiones con mayor metabolismo en los grupos S/S y L/L respectivamente. Los valores T, p-corregida (p-corr) y p-no corregida (p-no corr) corresponden a los obtenidos en el análisis de covarianza para el voxel de máxima significancia de cada «cluster». AB, área de Brodman. Las coordenadas corresponden al atlas del Instituto Neurológico de Montreal (MNI). El tamaño del «cluster» corresponde al número de voxels en cada «cluster»

	Coordenadas (MNI)			Hemisferio Cluster	Región	AB	Tamaño	Valores		
	X	Y	Z					T	p-corr	p-no corr
S/S > I/I										
	-40	-60	-12	Izquierdo	Giro fusiforme	37	87	5.11	0.037	0.000
	18	-56	-10	Derecho	Giro fusiforme	19	116	5.29	0.022	0.000
	-20	-78	-10	Izquierdo	Giro fusiforme	19	112	5.05	0.028	0.000
	-2	-58	-24	Izquierdo	Cerebelo		80	5.70	0.017	0.000
	14	-44	44	Derecho	Lóbulo anterior Parietal superior y cíngulo posterior	7 y 31	252	8.03	0.002	0.000
	-10	44	4	Izquierdo	Cíngulo anterior	42	11	3.04	0.045	0.006
	-18	16	14	Izquierdo	Núcleo caudado		57	4.03	0.05	0.001
	-12	48	36	Izquierdo	Giro frontal superior	8	60	3.66	0.052	0.002
	10	50	18	Derecho	Giro frontal superior	9	81	4.54	0.039	0.001
	20	26	-4	Derecho	Giro frontal inferior	47	65	4.47	0.042	0.001
	-34	2	-16	Izquierdo	Giro temporal superior (Amígdala)	38	29	4.16	0.146	0.001
	32	8	-16	Derecho	Giro temporal superior (Amígdala)	38	36	3.75	0.128	0.002
	-48	-30	18	Izquierdo	Giro temporal superior	29	114	3.82	0.04	0.002
I/I > S/S										
	-28	36	20	Izquierdo	Giro frontal medio	9	34	3.38	0.132	0.004
	-24	28	32	Izquierdo	Giro frontal medio	8	14	3.28	0.135	0.004
	38	38	24	Derecho	Giro frontal superior	9	11	2.93	0.143	0.008

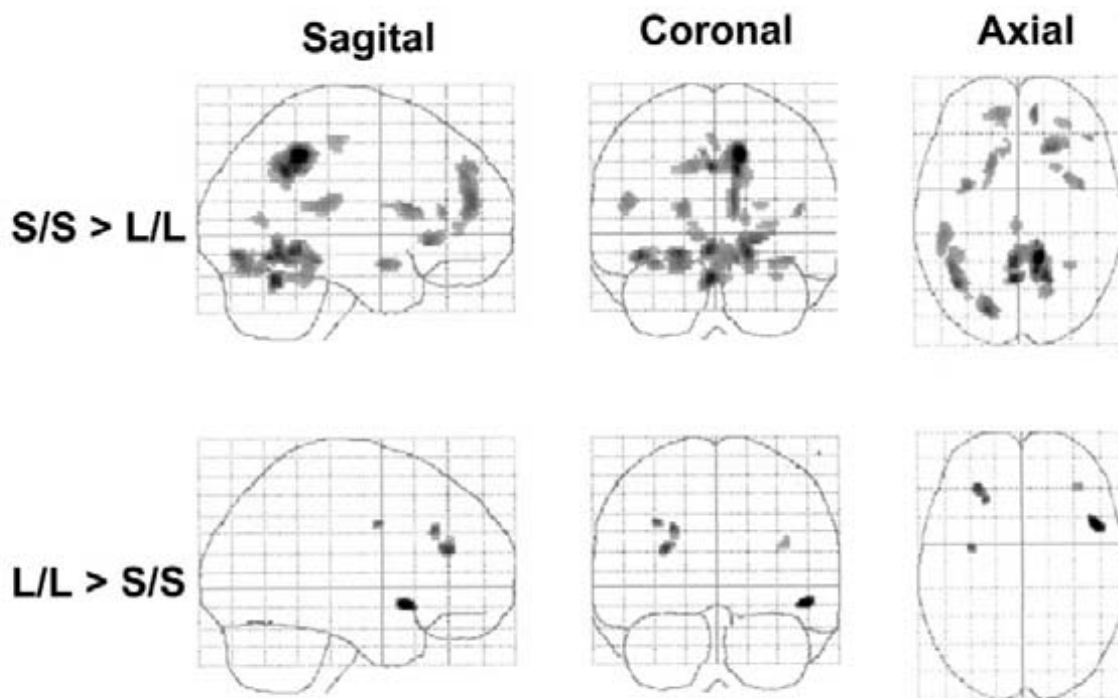


Fig. 3. Regiones con diferencias significativas de acuerdo con el análisis de covarianza entre el grupo S/S y L/L. Los resultados se encuentran proyectados sobre un cerebro de «cristal» en proyección axial, sagital y coronal. S/S > L/L corresponde a las regiones con mayor metabolismo en el grupo S/S. L/L > S/S corresponde a las regiones con mayor metabolismo en el grupo L/L.

sionando una mayor repercusión ante estímulos con significado emocional en los sujetos S/S en comparación a los L/L. Esto apoyaría la mayor susceptibilidad para presentar trastornos del espectro ansiedad-depresión en estos sujetos (4, 7).

Las regiones frontales se han involucrado en la fisiopatología de los trastornos afectivos (21) y en la

conducta impulsiva (23, 35). La respuesta metabólica al estímulo farmacológico de un agonista serotoninérgico, ha mostrado estar disminuida en sujetos con trastorno límite de la personalidad (con característica de inestabilidad afectiva e impulsividad) (23) y en sujetos altamente impulsivos (35). El incremento selectivo de metabolismo frontal, encontrado en nuestro estudio, podría explicar la menor frecuencia de trastornos afectivos (4, 13, 14), personalidad con rasgos ansiosos (7, 15, 16) y conducta impulsiva (18), en los sujetos L/L.

Además las AB 8 y 9 han mostrado poca variabilidad intersujeto y una alta determinación genética desde el punto de vista estructural (36-38). También en estas regiones se han descrito de forma consistente alteraciones en la citoarquitectura en algunos trastornos mentales con alta heredabilidad, como la esquizofrenia (39). Nuestros resultados muestran un incremento selectivo del metabolismo en estas regiones, asociado a un genotipo específico (L/L). Esto apoya la alta predeterminación genética en la estructura de estas regiones (38) y pone en evidencia que también su funcionamiento podría estar fuertemente determinado por la información genética. Se debe tener en consideración que las diferencias metabólicas observadas en nuestro estudio podrían ser la consecuencia de un efecto de volumen parcial (40).

CUADRO 3
Actividad metabólica media para cada una de las regiones que presentaron diferencia significativa. Se expresa en unidades arbitrarias. DE = desviación estándar

Coordenadas			Metabolismo			
X	Y	Z	SS		LL	
			Media	(DE)	Media	(DE)
-40	-60	-12	108.4	(3.8)	87.6	(6.6)
18	-56	-10	107.5	(10.3)	92.6	(11.0)
-20	-78	-10	104.5	(14.8)	93.1	(11.9)
-2	-58	-24	89.1	(12.3)	71.7	(5.01)
14	-44	44	89.7	(11.4)	70.3	(4.9)
-10	44	4	83.1	(12.6)	72.3	(13.3)
-18	16	14	80.7	(11.2)	57.2	(10.9)
-12	48	36	103.4	(7.2)	85.8	(11.3)
10	50	18	107.9	(6.5)	93.0	(7.1)
20	26	-4	80.5	(14.7)	67.7	(8.2)
-34	2	-16	63.1	(9.6)	58.8	(6.3)
32	8	-16	67.1	(6.1)	61.0	(4.1)
-48	-30	18	106.7	(14.3)	90.8	(12.6)
-28	36	20	88.7	(7.6)	115.2	(9.7)
-24	28	32	78.8	(12.4)	101.9	(7.2)
38	38	24	95.4	(12.8)	112.1	(5.6)

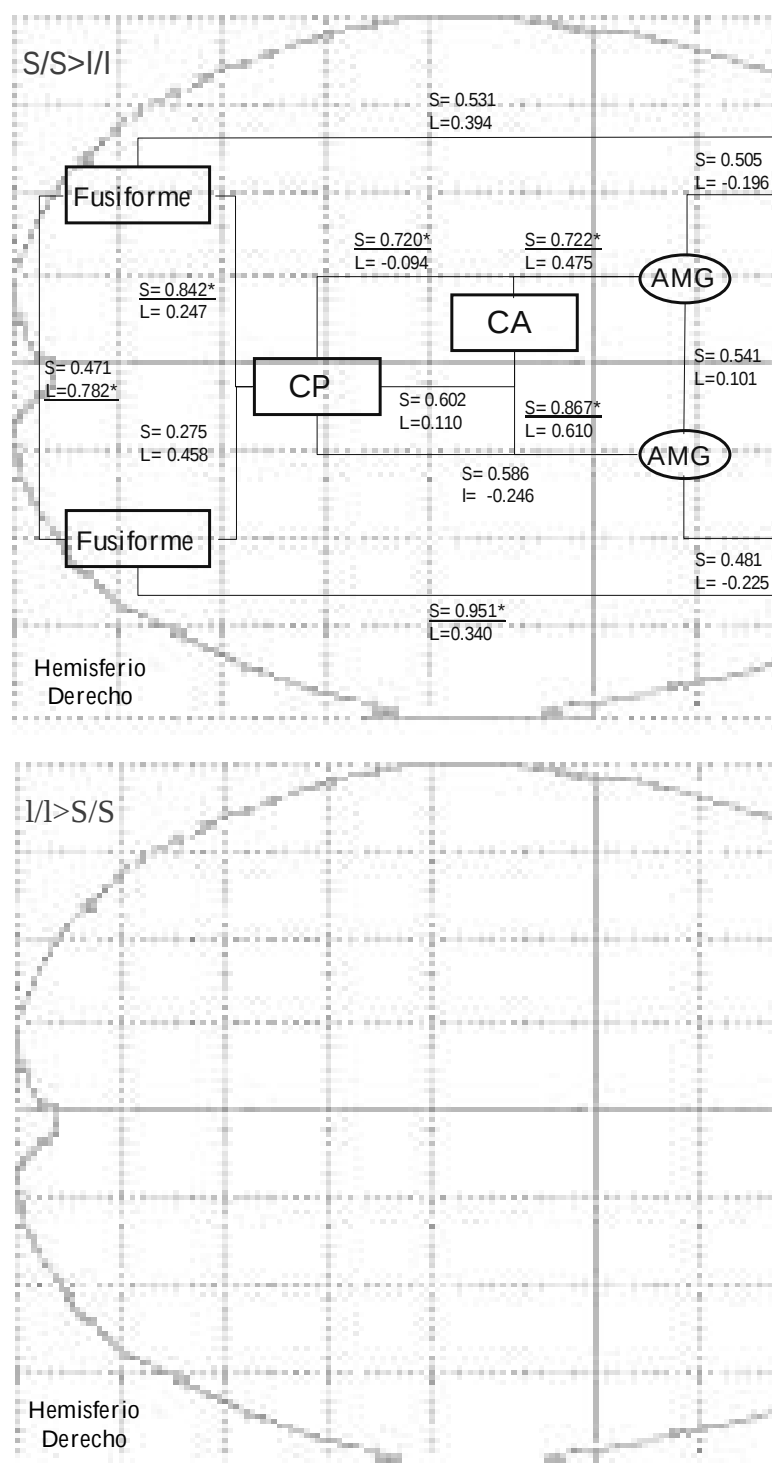


Fig. 4. Correlación entre las regiones con diferencias significativas de acuerdo con el análisis de covarianza entre el grupo S/S y L/L. En A se representan las correlaciones en las regiones con mayor metabolismo en el grupo S/S; en B las regiones con mayor metabolismo en el grupo L/L. Los coeficientes de correlación de Pearson se indican tanto para los homocigotos al S como al L. AMG = Amígdala temporal; CA = Cíngulo anterior izquierdo; CP = Cíngulo posterior derecho. * $p < 0.05$.

Los sujetos S/S y L/L no presentaron diferencias en edad, sexo, ni en las puntuaciones en las subescalas del SCL-90; esto indica que estos factores no influyen en las diferencias que observamos en el metabolismo cerebral entre ambos grupos. Sin embargo, debido al

pequeño efecto reportado (7, 41, 42) del polimorfismo del 5HTT sobre la conducta, es de esperarse no observar diferencias con muestras pequeñas.

Los estudios *in vivo* para cuantificar el 5HTT (9-12) han mostrado una disminución en la disponibilidad

del 5HTT en el rafe mesencefálico en los sujetos portadores del alelo S. Asimismo se ha encontrado, en estudios *postmortem*, una disminución del RNA mensajero en esta misma región (8). Nosotros no encontramos diferencias en el metabolismo del rafe; consideramos que el mayor efecto metabólico es sobre las regiones donde existen eferencias serotoninérgicas y una mayor concentración de receptores 5HT (1).

La correlación observada entre regiones (figura 4A), muestra un mayor acoplamiento funcional (conectividad) entre estructuras límbicas (amígdalas, cíngulo anterior y cíngulo posterior) en los S/S con respecto a los L/L. También se presenta correlación entre las estructuras límbicas y las corticales (frontal bilateral y fusiforme izquierdo). Lo anterior podría explicar que en los S/S cualquier aferencia sensorial pudiera desencadenar un efecto importante en las estructuras principalmente involucradas en el procesamiento de las emociones (frontales y límbicas), probablemente haciendo más susceptibles a los homocigotos S para desarrollar trastornos afectivos. Este circuito que proponemos con base en el análisis de conectividad neural, podría explicar también la mayor respuesta hemodinámica observada en las amígdalas en los portadores al S (24) ante estímulos visuales de carácter emocional.

Otra observación relevante es la correlación que se presenta entre estructuras corticales derechas (giro fusiforme derecho y frontal derecho) en los homocigotos al S. Esto es de interés si consideramos que se han propuesto las estructuras corticales derechas como las responsables del procesamiento del afecto negativo (tristeza, desagrado, dolor, etc.) (43).

La estructura y el funcionamiento cerebral (endofenotipos) son determinados por la interacción entre la información genética y el ambiente. Sin embargo los genes pueden determinar o favorecer una conducta en un ambiente determinado, en especial si consideramos que favorecen la susceptibilidad para alguna conducta (inteligencia, rasgos de personalidad, psicopatología, etc.). La asociación entre un "metabolismo cerebral determinado" o endofenotipo y una variante alélica (gene), puede contribuir a conocer la susceptibilidad de un individuo para presentar una conducta determinada o un trastorno.

De esta forma nuestros resultados proponen un posible endofenotipo (metabolismo cerebral) asociado a la expresión de las variantes alélicas del 5-HTTLPR que podría servir como marcador de susceptibilidad para los trastornos que se han asociado a este genotipo.

Agradecimientos

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por apoyo en beca de posgrado AG-G. A la Coordinación de la Investigación Científica y la Rectoría de la UNAM por las facilidades y

financiamiento parcial para realizar este trabajo. A los técnicos Antonio Manzo-Sánchez e Isabel Porras-Orta por su apoyo en la adquisición de las imágenes de PET.

REFERENCIAS

1. AGHAJANIAN G, SANDERS-BUSH E: Serotonin, in neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. Kenneth L, Davis DC, Joseph T Coyle, Nemeroff Ch (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 15-35, 2002.
2. LESCH KP, MOSSNER R: Genetically driven variation in serotonin uptake: is there a link to affective spectrum, neurodevelopmental, and neurodegenerative disorders? *Biological Psychiatry*, 44:179-92, 1998.
3. MANN JJ: Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropsychopharmacology*, 21:99S-105S, 1999.
4. CASPI A, SUGDEN K, MOFFITT TE, TAYLOR A, CRAIG IW, HARRINGTON H, MCCLAY J, MILL J, MARTIN J, BRAITHWAITE A, POULTON R: Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301:386-9, 2003.
5. UHL GR, JOHNSON PS: Neurotransmitter transporters: three important gene families for neuronal function. *J Experimental Biology*, 196:229-36, 1994.
6. BLAKELY RD, DE-FELICE LJ, HARTZELL HC: Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. *J Experimental Biology*, 196:263-81, 1994.
7. LESCH KP, BENGEL D, HEILS A, SABOL SZ, GREENBERG BD, PETRI S, BENJAMIN J, MULLER CR, HAMER DH, MURPHY DL: Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274:1527-31, 1996.
8. LITTLE KY, MCLAUGHLIN DP, ZHANG L, LIVERMORE CS, DALACK GW, MCFINTON PR, DELPROPOSTO ZS, HILL E, CASSIN BJ, WATSON SJ, COOK EH: Cocaine, ethanol, and genotype effects on human midbrain serotonin transporter binding sites and mRNA levels. *American J Psychiatry*, 155:207-13, 1998.
9. HEINZ A, JONES DW, MAZZANTI C, GOLDMAN D, RAGAN P, HOMMER D, LINNOILA M, WEINBERGER DR: A relationship between serotonin transporter genotype and in vivo protein expression and alcohol neurotoxicity. *Biological Psychiatry*, 47:643-9, 2000.
10. JACOBSEN LK, STALEY JK, ZOGHBI SS, SEIBYL JP, KOSTEN TR, INNIS RB, GELERTNER J: Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *American J Psychiatry*, 157:1700-3, 2000.
11. WILLEIT M, STASTNY J, PIRKER W, PRASCHAK RIEDER N, NEUMEISTER A, ASENBAUM S, TAUSCHER J, FUCHS K, SIEGHART W, HORNIK K, ASCHAUER HN, BRUCKE T, KASPER S: No evidence for in vivo regulation of midbrain serotonin transporter availability by serotonin transporter promoter gene polymorphism. *Biological Psychiatry*, 50:8-12, 2001.
12. SHIOE K, ICHIMIYA T, SUHARA T, TAKANO A, SUDO Y, YASUNO F, HIRANO M, SHINOHARA M, KAGAMI M, OKUBO Y, NANKAI M, KANBA S: No association between genotype of the promoter region of serotonin transporter gene and serotonin transporter binding in human brain measured by PET. *Synapse (New York)*, 48:184-8, 2003.
13. COLLIER DA, STÖBER G, LI T, HEILS A, CATALANO M, DI-BELLA D, ARRANZ MJ, MURRAY RM, VALLADA HP, BENGEL D, MULLER CR, ROBERTS GW, SMERALDI E, KIROV G, SHAM P, LESCH KP: A novel functional polymorphism within the promoter of the

serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Molecular Psychiatry*, 1:453-60, 1996.

14. OGILVIE AD, BATTERSBY S, BUBB VJ, FINK G, HARMAR AJ, GOODWIM GM, SMITH CA: Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet*, 347:731-3, 1996.
15. MAZZANTI CM, LAPPALAINEN J, LONG JC, BENDEL D, NAUKKARINEN H, EGGERT M, VIRKKUNEN M, LINNOILA M, GOLDMAN D: Role of the serotonin transporter promoter polymorphism in anxiety-related traits. *Archives General Psychiatry*, 55:936-40, 1998.
16. GREENBERG BD, LI Q, LUCAS FR, HU S, SIROTA LA, BENJAMIN J, LESCH KP, HAMER D, MURPHY DL: Association between the serotonin transporter promoter polymorphism and personality traits in a primarily female population sample. *American J Medical Genetics*, 96:202-16, 2000.
17. GARPENSTRAND H, ANNAS P, EKBLOM J, ORELAND L, FREDRIKSON M: Human fear conditioning is related to dopaminergic and serotonergic biological markers. *Behavioral Neuroscience*, 115:358-64, 2001.
18. CAMARENA B, RUVINSKIS E, SANTIAGO H, MONTIEL F, CRUZ C, GONZALEZ-BARRANCO J, NICOLINI H: Serotonin transporter gene and obese females with impulsivity. *Molecular Psychiatry*, 7:829-30, 2002.
19. CHUA P, KRAMS M, TONI I, PASSINGHAM R, DOLAN R: A functional anatomy of anticipatory anxiety. *Neuroimage*, 9:563-71, 1999.
20. LEDOUX J: Fear and the brain: where have we been, and where are we going? *Biological Psychiatry*, 44:1229-38, 1998.
21. MAYBERG HS: Limbic-cortical dysregulation: a proposed model of depression. *J Neuropsychiatry Clinical Neurosciences*, 9:471-81, 1997.
22. TASHIRO M, ITOH M, KUBOTA K, KUMANO H, MASUD MM, MOSER E, ARAI H, SASAKI H: Relationship between trait anxiety, brain activity and natural killer cell activity in cancer patients: a preliminary PET study. *Psycho-Oncology*, 10:541-6, 2001.
23. SOLOFF PH, MELTZER CC, GREER PJ, CONSTANTINE D, KELLY TM: A fenfluramine-activated FDG-PET study of borderline personality disorder. *Biological Psychiatry*, 47:540-7, 2000.
24. HARIRI AR, MATTAY VS, TESSITORE A, KOLACHANA B, FERA F, GOLDMAN D, EGAN MF, WEINBERGER DR: Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, 297:400-3, 2002.
25. DEROGATIS LR, LIPMAN RS, COVI L: SCL-90: an outpatient psychiatric rating scale—preliminary report. *Psychopharmacology Bulletin*, 9:13-28, 1973.
26. APM: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR*. American Psychiatric Press, Washington, 2000.
27. LAHIRI D, Jr NJ: A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research*, 19:5444, 1991.
28. HEILS A, TEUFEL A, PETRI S, STOBBER G, RIEDERER P, BENDEL D, LESCH K: Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochemistry*, 66:2621-2624, 1996.
29. ADAM L, ZAERS JHO: Performance evaluation of the whole-body PET scanner. *Proc IEEE*, 2:1270-1274, 1997.
30. TALAIRACH J, TOURNOUX P: *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System: An Approach to Cerebral Imaging*. Thieme Medical Pub, Nueva York, 1988.
31. BRETT M, JOHNSRUDE IS, OWEN AM: The problem of functional localization in the human brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 3:243-9, 2002.
32. ISHAI A, HAXBY JV, UNGERLEIDER LG: Visual imagery of famous faces: effects of memory and attention revealed by fMRI. *Neuroimage*, 17:1729-41, 2002.
33. HAXBY JV, HOFFMAN EA, GOBBINI MI: Human neural systems for face recognition and social communication. *Biological Psychiatry*, 51:59-67, 2002.
34. DUE DL, HUETTEL SA, HALL WG, RUBIN DC: Activation in mesolimbic and visuospatial neural circuits elicited by smoking cues: evidence from functional magnetic resonance imaging. *American J Psychiatry*, 159:954-60, 2002.
35. NEW AS, HAZLETT EA, BUCHSBAUM MS, GOODMAN M, REYNOLDS D, MITROPOULOU V, SPRUNG L, SHAW RB, KOENIGSBERG H, PLATHOLI J, SILVERMAN J, SIEVER LJ: Blunted prefrontal cortical 18fluorodeoxyglucose positron emission tomography response to meta-chlorophenylpiperazine in impulsive aggression. *Archives General Psychiatry*, 59:621-9, 2002.
36. RAJKOWSKA G, GOLDMAN-RAKIC PS: Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex: II. Variability in locations of areas 9 and 46 and relationship to the Talairach Coordinate System. *Cerebral Cortex*, 5:323-37, 1995.
37. RAJKOWSKA G, GOLDMAN-RAKIC PS: Cytoarchitectonic definition of prefrontal areas in the normal human cortex: I. Remapping of areas 9 and 46 using quantitative criteria. *Cerebral Cortex*, 5:307-22, 1995.
38. THOMPSON PM, CANNON TD, NARR KL, VAN-ERP T, POUTANEN VP, HUTTUNEN M, LONNQVIST J, STANDERTSKJOLD-NORDENSTAM CG, KAPRIO J, KHALEDY M, DAIL R, ZOUMALAN CI, TOGA AW: Genetic influences on brain structure. *Nature Neuroscience*, 4:1253-8, 2001.
39. SELEMON LD, RAJKOWSKA G, GOLDMAN-RAKIC PS: Abnormally high neuronal density in the schizophrenic cortex. A morphometric analysis of prefrontal area 9 and occipital area 17. *Archives General Psychiatry*, 52:805-18, 1995.
40. STRUL D, BENDRIEM B: Robustness of anatomically guided pixel-by-pixel algorithms for partial volume effect correction in positron emission tomography. *J Cerebral Blood Flow Metabolism*, 19:547-59, 1999.
41. MURPHY DL, LI Q, ENGELS S, WICHEMSC, ANDREWS A, LESCH KP, UHL G: Genetic perspectives on the serotonin transporter. *Brain Research Bulletin*, 56:487-94, 2001.
42. REIF A, LESCH KP: Toward a molecular architecture of personality. *Behavioural Brain Research*, 139:1-20, 2003.
43. PAULI P, WIEDEMANN G, NICKOLA M: Pain sensitivity, cerebral laterality, and negative affect. *Pain*, 80:359-64, 1999.