

De samenhang tussen individuele variatie in dopamine-gerelateerde polymorfismen en angstconditionering

Marije in het Veld

Abstract

Om te overleven is het voor een organisme noodzaak om te kunnen leren van eerdere ervaringen en in staat te zijn de relatie tussen aversieve gebeurtenissen en de omgevingsfactoren die deze gebeurtenissen voorspellen te leren (Maren, 2001). Bij angstconditionering voorspelt een oorspronkelijk neutrale stimulus (conditioned stimulus: CS), bijvoorbeeld een toon, een aversieve stimulus (unconditioned stimulus: UCS), bijvoorbeeld een schok. Dit veroorzaakt een koppeling tussen de CS en de UCS, die uiteindelijk een geconditioneerde reactie (CR) teweegbrengt. Wanneer iemand vervolgens herhaaldelijk aan CS wordt blootgesteld, zonder dat de UCS optreedt, zal de geconditioneerde reactie CR uiteindelijk geleidelijk zwakker worden (LeDoux, 2003). Studies met zowel mensen als dieren tonen aan dat er significante individuele verschillen zijn in het vermogen tot het aanleren van geconditioneerde angst en de habituatie en extinctie van deze angst (Hetteema et al., 2008). Bovendien blijkt dat individuele variatie in genetische factoren hierbij een belangrijke rol speelt. Deze studie had als doel te onderzoeken in hoeverre individuele variatie in polymorfismen omtrent dopamine de mate van conditionering van angst gerelateerde stimuli verklaart. Hiervoor is een al bestaande dataset geanalyseerd die voorkomt uit een onderzoek naar o.a. angstconditionering en werkgeheugen aan de Universiteit van Utrecht. In het onderzoek was geen sprake van een klassiek conditioneringsexperiment, maar moest tijdens de angstconditionering een dubbeltaak worden uitgevoerd: de visuele 'n-back' werkgeheugentaak. De geconditioneerde reactie is in het onderzoek gemeten aan de hand van huidgeleidingsresponsen, een fysiologische maat voor angst(conditionering). Bij het onderzoek zijn metingen gedaan naar de genetische variatie bij de participanten. Vanwege de beperkte tijd voor deze studie is ervoor gekozen alleen de individuele verschillen in genetische polymorfismen omtrent dopamine (COMTval158met en DAT1vntr) in beschouwing te nemen.

I. Inleiding

Verschillende onderzoeken ondersteunen de aanname dat angstconditionering een mogelijk mechanisme in angststoornissen is (Lissek et al., 2005; Iberco et al., 2008; Mineka & Oehlberg, 2008). Het blijkt dat patiënten die gediagnosticeerd zijn met een angststoornis snellere angstconditionering en langzamere extinctie tonen ten opzicht van mensen zonder angststoornis (Lissek et al., 2005).

Bij angstconditionering wordt een op zichzelf neutrale stimulus (CS), bijvoorbeeld een toon, een voorspeller voor een van nature aversieve stimulus (UCS), bijvoorbeeld een elektrische schok. Na een aantal aanbiedingen, roept de CS (angst)reacties op die normaal optreden in de aanwezigheid van gevaar, zoals verdedigend gedrag, reacties van het centrale zenuwstelsel en neuro-endocriene reacties. Deze responsen op bedreigingen zijn aangeboren en treden automatisch op in de aanwezigheid van stimuli die een potentiële bedreiging vormen (LeDoux, 2003). Het aanleren van het verband tussen CS en UCS wordt vaak de acquisitie genoemd. Na verloop van tijd veroorzaakt de CS een geconditioneerde reactie (CR), ook wanneer deze niet meer gepaard wordt aangeboden met de UCS. In deze fase van het leren treedt dus een CR op als reactie op een CS zonder dat een UCS wordt aangeboden. Extinctie treedt op wanneer de voorspellende relatie tussen een CS en een aversieve UCS zwakker wordt door het aanbieden van de CS in afwezigheid van de UCS. De angstreacties die veroorzaakt worden door de voorspellende CS verminderen en zullen uiteindelijk niet meer optreden (Holtzman-Assif et al., 2010). Ondanks het feit dat deze extinctie ervoor zorgt dat de CS geen angstreacties meer oproept, is de oorspronkelijke associatie niet verdwenen. Deze visie wordt ondersteund door onderzoeken die aantonen dat wanneer in eerste instantie een succesvolle extinctie heeft plaatsgevonden geconditioneerde reacties na een bepaalde periode soms 'spontaan' blijken terug te keren bij blootstelling aan de CS (spontaneous recovery). Ook kan de CR als reactie op de CS na succesvolle extinctie terugkeren wanneer een proefpersoon zich opnieuw bevindt in de context waar het aanleren van de CS – UCS plaatsvond (renewal) of na blootstelling aan enkel de UCS (reinstatement) (Delamater, 1997; Harris et al., 2000). Hieruit kan worden geconcludeerd dat tijdens en na de extinctie in principe alle oorspronkelijk associaties blijven bestaan en de oorspronkelijke (angst)reactie op de CS slechts onderdrukt wordt door een dominante nieuwe associatie (Myers & Davis, 2004; Bouton et al., 2006). Er is dus geen sprake van het afleren of vergeten van de oorspronkelijke CS – UCS associatie, maar er vindt een nieuw leerproces plaats waarbij een associatie gevormd wordt die in competitie is met de eerdere CS – UCS combinatie (Bouton, 2004; Myers & Davis, 2007).

In evolutionair opzicht is angstconditionering een essentieel mechanisme om te kunnen overleven, aangezien het ervoor zorgt dat in aanwezigheid van nieuwe of geleerde bedreigingen automatisch een gepaste reactie op gevaar geactiveerd wordt (LeDoux, 2003).

Tijdens conditioneringsstudies blijkt een aanzienlijk deel van de participanten niet in staat te zijn om de associaties te leren tussen een voorspellende cue (CS) en een aversieve stimulus (UCS). Bij deze participanten is dus geen sprake van conditionering, waardoor zij constant in een onvoorspelbare situatie blijven, ondanks het feit dat er een duidelijk voorspellend signaal gegeven wordt die een aversieve stimulus voorspelt. Dergelijke onvoorspelbare gebeurtenissen leveren meer stress op dan voorspelbare gebeurtenissen, en verondersteld wordt dat deze onvoorspelbaarheid een rol speelt bij de ontwikkeling van angststoornissen (Baas et al., 2008; Mineka & Oehlberg, 2008).

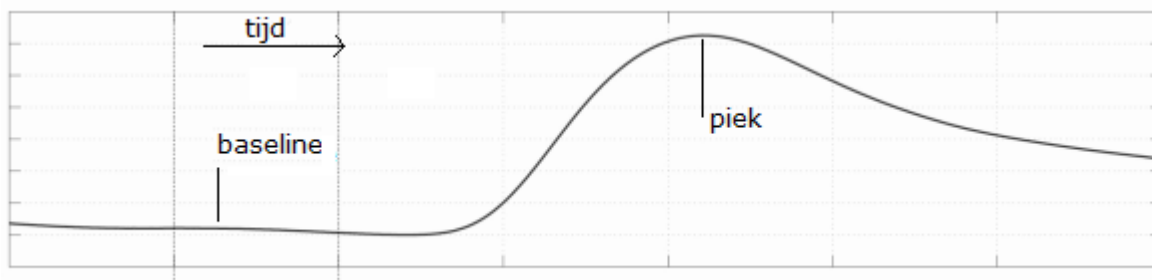
Vanuit conditioneringsparadigma's worden verschillende verklaringen gegeven voor de ontwikkeling van angststoornissen. Zo suggereert de 'safety signal hypothese' dat het niet kunnen leren van associaties aan de hand van een voorspellend signaal (CS) een veroorzaker van overmatige angst zou kunnen zijn (Iberco et al., 2008). Dit sluit aan bij het idee dat de onvoorspelbaarheid van gebeurtenissen een rol zou spelen bij het ontwikkelen van angststoornissen. Andere onderzoeken naar individuele verschillen in de acquisitie van geconditioneerde responsen zijn voornamelijk gericht op hyper-conditioneren. Een theorie van Orr et al. (2000) suggereert dat bij angstige individuen een sterkere en snellere geconditioneerde reactie (CR) optreedt en een langzamere extinctie. Dit overmatig conditioneren zou angststoornissen tot gevolg kunnen hebben. Bovendien kan langzamere extinctie angst veroorzaken, aangezien er een angstreactie blijft optreden in een situatie waarin geen sprake is van een aversieve stimulus.

Individuele verschillen in angstconditionering kunnen het resultaat zijn van verschillen in eerdere ervaringen of van genetische verschillen (of een combinatie van beide) (Mineka & Oehlberg, 2008). In een studie van Hettema et al. (2008) werd aangetoond dat de amplitude van huidgeleidingsresponsen als reactie op de aanbidding van een stimulus tijdens de habituatie, acquisitie en extinctie fases binnen een (klassiek) angstconditioneringsexperiment deels erfelijk bepaald zijn. Deze genetische effecten verklaarden 34-43% van de totale variatie in angstconditionering. Eenzelfde conclusie trokken Crider et al. (2004), die aantoonde dat huidgeleiding en de snelheid waarmee habituatie optreden genetische covariantie vertonen.

Een veelgebruikte wijze om angstconditionering te onderzoeken is het meten van autonome reacties, waaronder cardiovasculaire- en huidgeleidingsresponsen (Fanselow & Poulos, 2005). Bij huidgeleidingsmetingen wordt de weerstand/geleiding van de huid gemeten. Veranderingen in huidgeleiding zijn gerelateerd aan activiteit van de zweetklieren. De huid wordt meer geleidend naarmate er meer zweet geproduceerd wordt door de zweetklieren (Figner & Murphy, 2010). Een huidgeleidingsrespons (SCR) is een korte fluctuatie in de huidgeleiding die enkele seconden duurt en vervolgens geleidelijk afneemt. De amplitude van een SCR is het verschil tussen de uitgangssituatie (baseline) en de piek van de fluctuatie (zie

figuur 1.1).

Activiteit van de zweetklieren hangt samen met de arousal van het zenuwstelsel. Verschillende structuren, waaronder de amygdala, hippocampus en prefrontale cortex, zijn mede betrokken bij het aansturen van de zweetklieren (Figner & Murphy, 2010). Gezien het feit dat deze structuren in het brein een belangrijke rol spelen bij affectieve processen wordt huidgeleiding vaak gebruikt als indicator van emotionele arousal zoals bijvoorbeeld angst (Nagvi & Bechara, 2006).



Figuur 1.1. Voorbeeld van de ruwe data van een huidgeleidingsrespons (SCR).

1.2 De neurobiologie van angstconditionering

Er zijn verschillende subcorticale en corticale hersenstructuren die een rol spelen in angstconditionering. Belangrijke structuren met betrekking tot angstconditioneringsprocessen zijn de amygdala, hippocampus, hypothalamus en de prefrontale cortex (Graham & Milad, 2011).

Onderzoeken tonen aan dat de amygdala een belangrijke structuur is voor de acquisitie van angst en cruciaal is voor het vormen van associaties die ten grondslag liggen aan angstconditionering. De basolaterale kern van de amygdala is de belangrijkste neurale structuur waarin informatie over geconditioneerde en niet-geconditioneerde stimuli samenkomt (LeDoux, 2007). Structuren in de mediale prefrontale cortex zijn betrokken bij zowel de acquisitie als bij de uitvoering van executieve controle (Lonsdorf et al., 2009; Brambilla et al., 2011). De interactie tussen de mediale prefrontale cortex, de amygdala en de hippocampus speelt een centrale rol bij extinctie van angst (Quirk & Mueller, 2008; Tronson et al, 2012).

De neurobiologische basis van (angst)conditionering omvat verschillende neurochemische processen (Wijnen & Verstraten, 2008). Zo is het vrijkomen van dopamine in de amygdala cruciaal voor het aanleren van geconditioneerde reacties (Philips et al., 2010) en het vormen van herinneringen met betrekking tot angst (Hamm & Weike, 2005). Leegerelateerde processen zijn afhankelijk van dopaminerge neurotransmissie in met name de prefrontale cortex (Castner & Williams, 2007).

1.3 Angstconditionering en dopamine

Dopamine is een neurotransmitter. Neurotransmitters kunnen biochemisch als bepaalde substanties geclassificeerd worden. Dopamine valt onder de biogene amines (Gazzaniga, 2009). Er zijn vijf vastgestelde biogene amine neurotransmitters: histamine, serotonine en de drie catecholamines – dopamine, norepinephrine (noradrenaline), en epinephrine (adrenaline). Hoewel dopamine in verschillende gebieden van het brein aanwezig is, is de corpus striatum het gebied waar zich de hoogste concentratie dopamine bevindt (Purves et al., 2001).

1.3.1. Dopamine & de acquisitie van angst

Uit recente studies komt naar voren dat dopamine een rol speelt in de acquisitie van geconditioneerde angst (Maren, 2001). Zo blijkt dat het dopamine systeem in de (meso)amygdala geactiveerd wordt als reactie op geconditioneerde angst gerelateerde stimuli (Coco et al., 1992) wat suggereert dat het vrijkomen van dopamine in de amygdala kan bijdragen aan de acquisitie en uiting van geconditioneerde angst (Guarraci et al., 1999). Dopamine draagt bij aan de door de amygdala veroorzaakte aversieve reactie doordat het vrijkomen van dopamine en de daarmee gepaarde verhoogde dopaminelevels in de amygdala de functie van de amygdala kunnen vergroten (Tessitore et al., 2002). Kienast et al. (2008) suggereren dat de hoeveelheid vrijgeefbare dopamine in de amygdala bijdraagt aan individuele verschillen in de responsiviteit van de amygdala en functioneel gerelateerde prefrontale gebieden tijdens het verwerken van opvallende aversieve stimuli (Kienast et al., 2008).

1.3.2. Dopamine & de extinctie van angst

Bij angstconditionering speelt dopamine ook een belangrijke rol in het proces van extinctie. Zoals eerder beschreven is extinctie het uitdoven van de angstreactie die volgt op een CS, na het herhaaldelijk aanbieden van de CS in afwezigheid van de UCS. De nieuw geleerde associatie overheerst op den duur de oorspronkelijke CS – UCS relatie, waardoor uiteindelijk geen angstreactie meer optreedt. Bij extinctie is er dus sprake van het gelijktijdig bestaan van een nieuw en een oud geheugenspoor, waarbij de nieuwe associatie de oude (angst)reactie onderdrukt (Bouton, 1993).

Onderzoeksresultaten van Holtzman-Assif et al. (2010) tonen aan dat dopaminerge activiteit een vereiste is voor het onderdrukken van de geconditioneerde angst responsen die plaatsvinden tijdens extinctie. Ook hebben dierstudies aangetoond dat het vrijkomen van dopamine cruciaal is voor extinctie omdat het bijdraagt aan de versterking van het lange termijn geheugen (Sajikumar & Frey, 2004; Mueller et al., 2010). Het toedienen van dopamine receptor antagonisten (zoals raclopride en haloperidol) voor of na de extinctie in

dieronderzoeken had tot gevolg dat deze dieren een verminderd vermogen tot extinctie hadden, wat zich uitte in verhoogde angstreacties (Holtzman-Assif et al., 2010; Mueller et al., 2010). De samenhang tussen het vermogen tot het aanleren van extinctie en verhoogde angstreacties maken het dan ook een belangrijk aspect in de behandeling van o.a. angststoornissen (Mueller & Quirk, 2008).

Door middel van het combineren van fMRI en PET-imaging technieken vonden Kienast et al. (2008) een functioneel verband tussen een angstig temperament, opslagcapaciteit van dopamine en emotionele verwerking in de amygdala. Deze resultaten suggereren dat individuele opslagcapaciteit van dopamine in de amygdala invloed heeft op de emotionele verwerking in de amygdala en de dorsale cingulate cortex. Op die manier draagt het bij aan individuele verschillen in een angstig temperament (Kienast et al., 2008).

1.4 Angstconditionering en polymorfismen

Het dopaminesysteem en de plaatsen in het brein waar het een belangrijke rol speelt – o.a. het striatum en de prefrontale cortex- spelen een cruciale rol in het moduleren van gedrag, emotie en hogere orde processen. Dopaminerge neurotransmissie wordt beïnvloed door functionele polymorfismen in het catechol-O-methyltransferase (COMT) (Chen et al., 2004) en dopamine transporter (DAT1) gen (VanNess et al., 2005). De deelnemers aan deze studie zijn gegenotypeerd aan de hand van het DAT1vntr en het COMTval158met polymorfisme.

1.4.1. COMT

Verschillende studies tonen aan dat catechol-O methyltransferase (COMT) een sleutelrol speelt in dopamine metabolisme in de prefrontale cortex. COMT is een enzym dat dient als een belangrijk mechanisme voor de afbraak van dopamine, norepinephrine en epinephrine (Matsumoto et al., 2003; Männistö et al., 2007). De prefrontale cortex wordt veelal geassocieerd met mentale processen (Yavich et al., 2007; Kaenmaki et al., 2010) en de inhibitie van angstreacties (Norrholm et al., 2013). Het COMT genotype wordt in het bijzonder geassocieerd met het prestatieniveau op tests met betrekking tot executieve cognitie die gerelateerd zijn aan het functioneren van de prefrontale cortex (Egan et al., 2001). Het effect van COMT variatie op prefrontale corticale activiteit en executieve functies is aangetoond in zowel gezonde individuen als patiënten die lijden aan dopamine-gerelateerde psychiatrische stoornissen (Männistö et al., 2007). Ook is aangetoond dat het COMT polymorfisme invloed heeft op de verwerking van emoties en op de reactie van de amygdala op angst-gerelateerde emotionele stimuli (Domschke & Dannlowski, 2010). Onderzoekresultaten suggereren dat COMT met name effect heeft op het verwerken van negatieve emoties, wat in lijn is met verscheidene associaties die zijn gelegd tussen het COMT genotype en angststoornissen (Domschke et al., 2004).

Het COMT gen bevat een functioneel polymorfisme dat een aminozuur verandering veroorzaakt van valine (val) naar methionine (met) op codon 158 (val158met) (Chen et al., 2004). Deze verandering wordt in verband gebracht met een drie tot viervoudige afname van enzymatische activiteit en dopamine afbraak (Lotta et al., 1995). Het COMT enzym dat methionine bevat is relatief thermolabiel, waardoor de activiteit ervan bij lichaamstemperatuur lager is dan de activiteit van het COMT enzym dat valine bevat, welke volledig actief is bij deze temperatuur. Daardoor hebben individuen met twee kopieën van het met allel (met/met) 25 tot 75% minder COMT enzymatische activiteit ten opzichte van individuen met twee kopieën van de val allel (val/val) (Lachman et al., 1996). Minder COMT enzymatische activiteit leidt tot minder dopamine-afbraak wat een toename in lokale dopamine concentratie veroorzaakt, met name in de prefrontale cortex. Er wordt dan ook aangenomen dat er sprake is van hogere dopaminelevels bij het met/met genotype ten opzicht van het val/val genotype (Chen et al., 2004).

Het is gebleken dat de hogere concentratie dopamine die samenhangt het met allel, voordelig is bij cognitietesten met betrekking tot aandacht en geheugen, maar daarentegen nadelig is voor taken met betrekking tot cognitieve flexibiliteit (Chen et al., 2004; Zhang et al., 2013). Het val allel wordt in verband gebracht met verminderde cognitieve prestaties in vergelijking met het met allel. fMRI studies tonen aan dat val dragers verminderde efficiëntie van fysiologische reacties tijdens het uitvoeren van simpele werkgeheugentaken vertonen (Egan et al., 2001) en een verslechterde aandacht hebben (Blasi et al., 2005). Egan et al. (2001) suggereren dat de door het COMT val allel veroorzaakte verhoging van de dopamine afbraak in de prefrontale cortex, een verslechtering van de prefrontale cognitie tot gevolg heeft.

Een studie van Norrholm et al. (2013) toonde aan dat er bij mensen met post-traumatisch stresssyndroom (PTSD) en het met/met genotype sprake was van grotere angst als reactie op CS- in vergelijking met val/val dragers. PTSD werd geassocieerd met verslechterde extinctie, en deze was het slechtst in PTSD individuen die bovendien met/met dragers waren. Deze resultaten zijn consistent met uitkomsten van eerdere onderzoeken waar het met/met genotype werd geassocieerd met de vatbaarheid van het ontwikkelen van PTSD (Valente et al., 2011) en gevoeligheid voor angststoornissen (Woo et al., 2004). Deze gevoeligheid hangt samen met vergrote reacties van limbische gebieden in het brein, zoals de amygdala, hippocampus en prefrontale cortex en een vergrote verbinding tussen deze structuren (Heinz & Smolka, 2006). Zo hebben fMRI studies aangetoond dat er bij homozygoten van het met allel sprake is van toegenomen activatie van de amygdala en de hippocampus en vergrote prefrontale activiteit als reactie op negatieve stimuli (Zubieta et al., 2003; Smolka et al., 2005; Lelli-Chiesa et al., 2011). Soortgelijke resultaten komen uit een onderzoek van Drabant et al. (2006) waar bij dragers van het met allel een toegenomen koppeling tussen de amygdala en prefrontale cortex als reactie op negatieve gezichtsuitdrukkingen werd geobserveerd (Drabant et al., 2006; Rasch et al., 2010).

Bevindingen met betrekking tot het COMT Val158Met polymorfisme blijken nog al eens inconsistent te zijn. Zo blijkt het met alle enerzijds gunstig voor de prestatie van het werkgeheugen en het beter functioneren van de prefrontale cortex (Bilder et al., 2004; Berman et al., 2009), maar anderzijds wordt het geassocieerd met verhoogde angst (Enoch et al., 2003), negatieve gemoedstoestanden en angststoornissen (Woo et al., 2004). Ook is het gelinkt aan verhoogde agressie, wat moeilijk te rijmen is met bewijs dat er een link is tussen agressie en verminderde prefrontale functies (Bilder et al., 2004).

Een mogelijke verklaring voor de inconsistentie die gezien wordt met betrekking tot onderzoeken naar het COMTval158met polymorfisme is de warrior/worrier hypothese voorgesteld door Goldman (Goldman et al., 2005). Deze hypothese stelt dat beide COMT varianten hun eigen omgevingsafhankelijke (evolutionaire) kracht hebben. Bij het warrior ('krijger') type zou sprake zijn van meer veerkracht en verbeterde verwerking van aversieve stimuli, maar ook van verminderde cognitieve prestaties onder normale omstandigheden. Dit type wordt geassocieerd met homozygoten van het val allel (Goldman et al., 2005). Warriors zouden echter in een bedreigende omgeving waar optimale prestatie vereist is ondanks gevaar en pijn beter presteren (Stein et al., 2006). Hiermee consistent zijn bevindingen die aantonen dat val158 allelen bescherming bieden tegen gevoeligheid voor angst en pijn (Milad & Quirk, 2002). Bij het worrier ('piekeraar') type worden betere cognitieve prestaties zoals aandacht en werkgeheugen waargenomen onder normale omstandigheden, maar sterkere reacties op aversieve stimuli en een verminderde mogelijkheid om adequaat te reageren na pijn of stress. Dit type wordt geassocieerd met homozygoten van het met allel (Goldman et al., 2005; Stein et al., 2006). Beide varianten van het COMT gen kunnen dus, afhankelijk van de omstandigheden en de omgeving, hun eigen evolutionaire voordelen hebben.

1.4.1. DAT1

De dopamine transporter (DAT) speelt een belangrijke rol in het bepalen van de duur en de sterkte van een dopamine signaal door de heropname van dopamine na het vrijkomen ervan te reguleren (Berman et al., 2009). In tegenstelling tot COMT komt de DAT veel voor in het striatum, waar het dient als het belangrijkste eiwit voor de heropname van dopamine (Wayment et al., 2001). De dichtheid van DAT is in de prefrontale cortex veel lager dan in het striatum (Scatton et al., 1985). DAT bevat een VNTR polymorfisme dat de beschikbaarheid van de transporter bepaalt en daarmee ook de heropname van dopamine in het striatum beïnvloedt. Hiermee resulteert de reactie van DAT1VNTR in veranderingen van striatale dopaminelevels (Heitland et al., 2013).

VNTR refereert naar een variabel aantal opeenvolgende herhalingen van een aantal basenparen in het DAT gen. Het DAT1 gen bestaat uit 15 exonen. Het VNTR polymorfisme heeft een lengte van 40 basenparen en wordt tussen de 3 en de 13 keer herhaald. Meestal is er sprake van 9-herhalingen of 10-herhalingen, waarbij de 10-herhalingen variant het meest wordt waargenomen (VanNess et al., 2005). Hoewel in-vivo studies met betrekking tot DAT tegenstrijdige resultaten tonen (van Dyck et al., 2005), suggereren in-vitro studies coherent dat het 9-herhalingen allel geassocieerd wordt met verminderende beschikbaarheid van DAT en daarmee hogere dopaminelevels (Fuke et al., 2001; Mill et al., 2002; VanNess et al., 2005).

DAT1 blijkt de mate van het kunnen aanleren van extinctie te beïnvloeden. Draggers van de 9-herhalingen allel, waarbij gedacht wordt dat er sprake is van verhoogde dopamine release, bleken in een onderzoek van Raczka et al. (2011) betere extinctie te vertonen dan draggers van het 10-herhalingen allel.

1.5. Hypothese

1.5.1. COMT-hypothese

Aangezien onderzoeken aantonen dat bij met/met allel draggers tijdens de extinctie sprake is van grotere angstresponsen op CS's in vergelijking met val/val draggers (Haaker et al., 2013), verwachten we dat met/met draggers in de extinctiefase sterkere huidgeleidingsresponsen vertonen dan val/val draggers. Gezien het feit dat het met allel in verband wordt gebracht met verhoogde angst en angststoornissen zou dit aansluiten bij de theorie dat overmatige angst kan ontstaan door hyperconditioneren.

Het met/met genotype wordt gelinkt aan een betere prestatie van het werkgeheugen en het beter functioneren van de prefrontale cortex (Bilder et al., 2004; Berman et al., 2009; Lonsdorf et al., 2009). In een onderzoek van Goldberg et al. (2003) wordt het met allel in verband gebracht met het prestatieniveau op de n-back werkgeheugentaak, hoewel er geen sprake is van een sterke associatie (gedeelde variantie van minder dan 3%). Door de verbeterde presentatie op de werkgeheugentaak en het functioneren van de prefrontale cortex van met allel draggers, verwachten we dat deze taak voor met allel draggers minder inspanning vergt dan voor val allel draggers. We verwachten daarom een betere angstconditionering tijdens de acquisitiefase bij participanten die als met genotype geïdentificeerd zijn.

Uitgaand van de warrior/worrier hypothese, waarin gesteld wordt dat draggers van het val/val allel goed functioneren in bedreigende omgeving waar optimale performance vereist is ondanks gevaar en pijn (Goldman et al., 2005; Stein et al., 2006), is de verwachting dat val homozygoten in dit experiment, waar sprake is van een constante dreiging, beter presenteren op de afleidende werkgeheugentaak dan homozygoten van het met allel.

1.5.2. DAT-hypothese

Resultaten tonen aan dat DAT1 invloed heeft op het kunnen aanleren van extinctie. De verwachting is dat dit onderzoek consistent is met de bevindingen in eerder onderzoek (Raczka et al., 2011) waaruit bleek dat dragers van het 9-herhalingen allel betere extinctie vertonen dan dragers van het 10-herhalingen allel. We verwachten daarom dat er bij dragers van het 10-herhalingen allel sprake is van minder extinctie en slechtere angstconditionering ten opzichte van 9-herhalingen allel dragers.

II. Methoden

2.1 Participanten

In het totaal 130 studenten van de Universiteit Utrecht hebben deelgenomen aan het onderzoek (gemiddelde leeftijd = 21.8 jaar, standaard afwijking = 2.5). De sample bestond uit 73 vrouwen en 57 mannen. 12 participanten zijn niet meegenomen in de analyse vanwege incomplete DNA data en/of onbetrouwbare huidgeleiding. Alle participanten hebben schriftelijke toestemming gegeven deel te nemen aan het onderzoek. De deelnemers kregen hiervoor €10,- per uur uitgekeerd. Deelname voorwaarden waren: geen ziektegeschiedenis die naar inzien van de onderzoekers de resultaten van het onderzoek zouden kunnen beïnvloeden, waaronder mentale aandoeningen, beroertes en verstandelijke handicaps, geen geschiedenis van drugsverslaving of drugsmisbruik in het voorgaande jaar, geen huidige diagnose van klasse I of II psychiatrische stoornissen, geen psychotrope medicatie in de laatste 4 weken van het onderzoek, geen gehoorproblemen en geen kleurenblindheid. Het onderzoek is goedgekeurd door de medisch-ethische toetsingscommissie van het Universitair Medisch Centrum (UMC) te Utrecht.

2.2 Genotypering

DNA werd afgenomen door een uitstrijkje te maken van het wangslimvlies. Het verzamelde DNA werd vervolgens direct ingevroren voor latere genotypering (temperatuur -40°C). Er werd gebruik gemaakt van de QIAamp DNA Mini Kit om het genomisch DNA te onttrekken en te zuiveren (Qiagen, Hilden, Duitsland).

De genotypering kon niet voltooid worden bij 1 deelnemer voor het COMT polymorfisme, 1 deelnemer voor het DAT1 polymorfisme en 3 deelnemers voor geen van beide polymorfismen.

Het DAT1 polymorfisme werd geamplificeerd door middel van een polymerase kettingreactie (PCR) en werd vervolgens volgens een protocol (Heitland et al., 2012) aan elektroforese onderworpen. Verder werden deelnemers geclassificeerd aan de hand van het al dan niet aanwezig zijn van het 9-herhalingen allel. Proefpersonen werden gegroepeerd als zijnde negen-herhalingen dragers [n= 64] of tien-herhalingen homozygoten [n= 65].

Het COMT val158met polymorfisme werd gegenotypeerd aan de hand van een Taqman Drug metabolisme genotyperingstest (Assay ID: C 25746809 50; Applied Biosystems, Foster City, CA). Op basis van een eindpuntanalyse die uitgevoerd werd op een Abi Prism 7000, zijn de deelnemers geclassificeerd als drager van met/met [n= 43], val/met [n= 55] of val/val [n= 31]. Vervolgens werden de participanten gegroepeerd als val-allel [n= 86] drager of als met homozygoot [n= 43] om zeker te zijn van voldoende statistische sterkte.

2.3 Materialen

Huidgeleidingsresponsen werden geregistreerd met behulp van een Biosemi Active Two 16 Hz systeem (www.biosemi.com). Voor het meten van de huidgeleiding werden elektroden bevestigd op de binnenzijde van het tweede vingerkootje van de wijs- en middelvinger van de linkerhand. De huidgeleiding wordt uitgedrukt in nanosiemens.

De toegediende schokken (UCS) waren elektrische pulsen met een duur van 700ms en werden toegediend met een frequentie van 500Hz. De schokken werden toegediend met een generator (Digitimer DS7A, Digitimer, Letchworth Garden City, UK) via twee 'tin cup' elektroden, die geplaatst waren op de mediane zenuw van de linker pols. Nadat de shock elektrodes aangebracht waren werd de sterkte van de elektrische shock per proefpersoon vastgesteld aan de hand van een test zoals eerder beschreven in onderzoeken van o.a. Klumpers et al. (2010). Voor elke participant werd de intensiteit van de schok individueel afgesteld zodat deze overeenkwam met een sterkte van 4 uit 5, wat 'tamelijk vervelend' voorstelde. Deze zelfde schoksterkte werd tijdens het hele experiment gebruikt.

Visuele stimuli werden getoond op een CRT computer monitor (refresh rate: 75 Hz). Deze monitor werd op een afstand van 60 cm van de ogen van de participant geplaatst.

Geluid werd gepresenteerd door een koptelefoon van Sennheiser, model HD202. De CS+ (CS gevolgd door schok) en CS- (CS niet gevolgd door schok) waren ofwel een 1100Hz toon (57 dB) ofwel een 440Hz toon (54 dB).

De conditioneringstaak en de 'shock work up procedure' werden geschreven in 'Presentation' software (Neurobs).

2.4. Procedure

De gehele procedure nam zo'n twee uur in beslag. Participanten zaten voor een scherm (33 inch hoog, 41 inch breed) in een afgescheiden ruimte met geringe verlichting. Er werd gebruik gemaakt van een muis of een keyboard om opdrachten uit te voeren.

2.4.1. 'Digit span' werkgeheugentaak

Voor de werkgeheugentaak werden reeksen cijfers hardop voorgelezen door de onderzoeker met een snelheid van één cijfer per seconde. De participanten moesten naar deze reeks luisteren en deze vervolgens herhalen. Er werd gebruik gemaakt van twee soorten reeksen: bij de zogenaamde 'vooruit' taak moesten de participanten de reeks herhalen in dezelfde volgorde als ze deze gehoord hadden, bij de 'achteruit' taak moesten ze de reeks in omgekeerde

volgorde dan deze voorgelezen waren herhalen. De lengte van de reeks begon met twee cijfers en liep op tot een lengte van negen cijfers voor het identiek herhalen en acht cijfers voor het omgekeerd herhalen. Er werd gebruik gemaakt van twee reeksen van elke lengte. Wanneer een participant er niet in slaagde vier reeksen achter elkaar te herhalen, werden er geen verdere reeksen gepresenteerd.

2.4.2. Angstconditionering

Om te beginnen moesten de participanten instructies lezen over de n-back taak. In deze taak moesten participanten elke keer op de linkermuisknop drukken wanneer het nummer dat op het scherm gepresenteerd identiek was aan het voorafgaande nummer. De nummers 1, 2, 3 of 4 verschenen in willekeurige volgorde met een constante snelheid (1 Hz) op het scherm.

De conditioneringstaak bestond uit drie fasen: habituatie, acquisitie en extinctie.

Habituatie

Tijdens de habituatie fase doorliepen participanten een oefenblok van 130 trials van de n-back werkgeheugentaak, om op die manier te kunnen waarborgen dat iedereen een bepaald niveau had in het presteren op deze taak. Tijdens dit oefenblok werd vier keer de CS+ toon en vier keer de CS- toon gepresenteerd. Daarmee was dit oefenblok ook meteen een habituatie fase voor beide CS'en. Echter werd tijdens deze fase nog geen schokken toegediend. Voor de ene helft van de deelnemers was de CS+ een toon met hoge frequentie (1100Hz) en voor de andere helft was de CS+ een toon met lage frequentie (440Hz).

Na de habituatiefase kregen participanten een hint met betrekking tot de schokken die toegediend zouden worden: "De schokken zijn te voorspellen. Als je oplet tijdens de geheugentaak zou je erachter kunnen komen wat deze schokken voorspelt".

Verder werden ze geïnstrueerd dat er tijdens de verwachtingsblokken, die tussen de acquisitie blokken in plaatsvonden, geen schokken toegediend zouden worden. In het totaal waren er vier acquisitie blokken en vijf verwachtingsblokken. Elk acquisitie blok werd gevolgd door een verwachtingsblok. Ook de extinctie fase werd gevolgd door een laatste verwachtingsblok (zie figuur 1.1).

Tijdens deze verwachtingsblokken moesten participanten beantwoorden in hoeverre ze een schok verwachtten op een bepaald moment, gebaseerd op wat ze hadden geleerd tijdens de acquisitiefase. Om de situatie die de participanten ervoeren tijdens de acquisitieblokken te simuleren, gingen de participanten tijdens de verwachtingsblokken door met de n-back taak. Bovendien werd tijdens de verwachtingsblokken een CS+ toon, een CS- toon of helemaal geen toon gepresenteerd. De vraag over de verwachting van de schok verscheen één seconde na

het begin van de CS+ of CS-, om de situatie tijdens de acquisitieblokken te simuleren. Er werd een visuele analoge schaal (VAS), variërend van 1 tot 5 gebruikt voor de subjectieve rapportage van de verwachting van de schokken. Er werd gebruik gemaakt van de muis om het verwachtingsniveau aan te geven.

Acquisitie

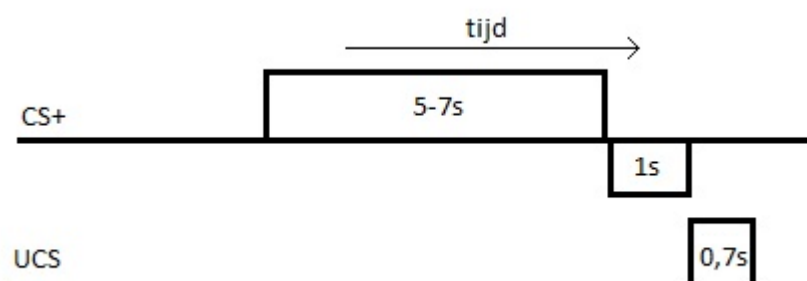
Tijdens de acquisitiefase werden een totaal van 16 CS+ en 16 CS- gepresenteerd, terwijl participanten tegelijkertijd de hierboven beschreven n-back taak uitvoerden. Elke CS+ werd bekrachtigd (100% bekrachtiging) doordat deze 1 seconde na het begin van de CS+ gevolgd werd door een schok (de UCS). Er was dus sprake van een stimulusvrije periode van 1 seconde (zie figuur 1.2). De schok had een duur van 700 milliseconden. Om een anticiperende huidgeleidingsrespons op de schokken te laten ontstaan zonder beïnvloeding door de fysiologische metingen van deze schokken, hadden de CS+ en CS- een duur van ofwel 5 ofwel 7 seconde.

Extinctie

Tijdens de extinctie fase kregen participanten vier niet-bekrachtigde CS+ en CS- presentaties. Deze CS+ en CS- werden in willekeurige volgorde gepresenteerd, waarbij er niet meer dan twee aanbiedingen van een specifieke CS optraden en er vier CS+ en vier CS- voorkwamen in elk blok. Het tijdsinterval tussen de stimuli (CS) was gelijkmatig verdeeld van 10 tot 18 seconden.



Figuur 1.1: Schematische weergave van de verschillende fasen (habituatiefase, acquisitie en extinctie) en de verwachtingsblokken tijdens het conditioneringsexperiment.



Figuur 1.2: schematische weergave van de CS+ conditionering tijdens de acquisitiefase. De CS+ had een duur van 5 of 7 seconden en werd gevolgd door een stimulusvrije periode van 1 seconde. Deze werd gevolgd door een schok (de UCS) met een duur van 0,7 seconde.

2.5. Data-analyse

2.5.1. Huidgeleidingsresponsen tijdens de conditioneringstaak

Huidgeleidingsresponsen op de CS+ en CS- werden gemeten tijdens de habituatie, acquisitie en extinctiefases van de conditioneringstaak. Bij huidgeleidingsstudies zijn relatief lange intervallen (6 tot 12 seconden) tussen trials vereist om er zeker van te zijn dat de huidgeleiding na een trial weer is teruggekeerd naar zijn neutrale waarden voor de volgende trial begint (Reid & Gonzalez-Vallejo, 2009). De huidgeleiding werd daarom alleen gemeten tijdens de CS's met een duur van 7 seconden (en niet tijdens de CS's met een duur van 5 seconde) om te zorgen voor genoeg tijd om een anticiperende huidgeleidingsrespons te ontwikkelen. De eerste huidgeleidingsresponse die begon tussen de 1 en 4 seconde na aanvang van de CS, en die niet later piekte dan 7 seconde na aanvang van de CS werd beschouwd als de eerste huidgeleidingsresponse als reactie op de CS. Dit is gedaan volgens vastgestelde richtlijnen van Dawson, Schell & Fillion (2000).

Om de invloed van ruis in de fysiologische data te verkleinen, werd de analyse uitgevoerd op een gemiddelde van de drie pieken van de CS+ en CS- in elk blok (voor acquisitie en extinctie). De data scoring is gedaan in het programma 'Brain Vision Analyzer'. Zowel de positieve als negatieve piekscores zijn waar nodig handmatig bijgewerkt. Wanneer er geen huidgeleidingsreactie was, werd deze als een 0-respons genoteerd. Alle responsen < 0.01 zijn beschouwd als niet valide. Proefpersonen die alleen 0-responsen vertoonden zijn niet meegenomen in de analyse (n = 12).

Door de CS+ en CS- scores in elk blok te middelen, werd het experiment in vijf blokken verdeeld met in elk blok een gemiddelde huidgeleidingsrespons (SCR) voor CS+ en voor CS-. Alle valide individuele huidgeleidingsresponsen zijn gestandaardiseerd door middel van range correction. Deze standaardisatie is per proefpersoon gedaan aan de hand van de huidgeleidingsrespons op de eerste schok. Alleen deze gecorrigeerde huidgeleidingsdata is gebruikt voor verdere analyse. Voor de acquisitie en extinctie werden verschillscores berekend door per blok de gemiddelden van de huidgeleidingsresponsen van CS- af te trekken van de gemiddelden van CS+. Over deze scores is ten slotte als extra normalisatieprocedure voor elke waarde in excel een log transformatie uitgevoerd.

2.5.2. Digit span werkgeheugentaak

Voor zowel de 'vooruit taak' als de 'achteruit taak' werd elke trial met 1 punt beoordeeld als de participant de reeks getallen juist had herhaald. Wanneer de participant hier niet in slaagde werd de trial met 0 punten beoordeeld. Was de participant niet in staat vier reeksen achter

elkaar te herhalen, dan werden 0 punten toegekend aan alle daaropvolgende reeksen. De maximaal haalbare score voor de 'vooruit' en 'achteruit' taken waren respectievelijk 16 en 14 punten.

2.5.3. Statistische analyse

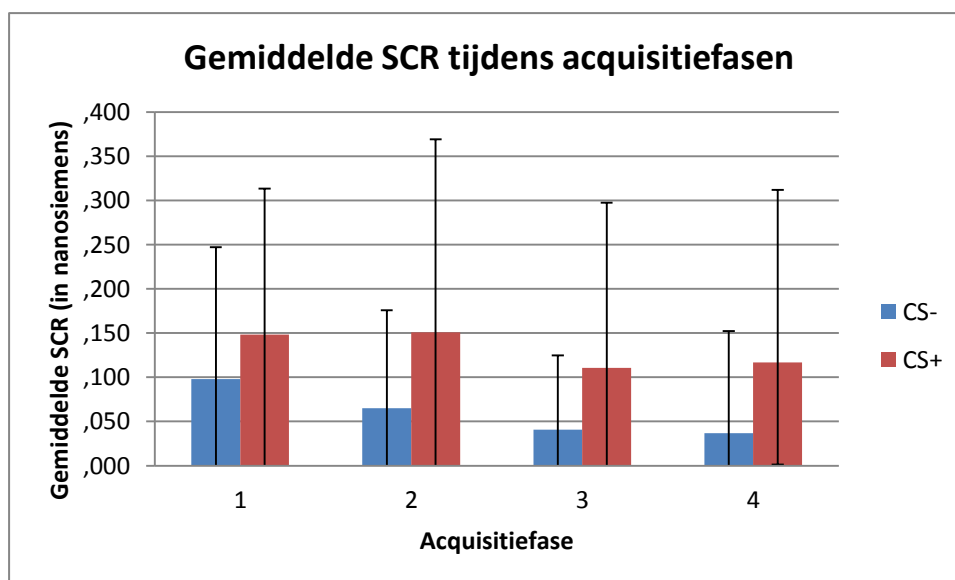
De statistische analyse is gedaan met IBM SPSS 20.0 voor Windows. Om de relatie tussen variatie in genotype en de mate van angstconditionering te testen is een herhaalde metingen ANOVA gebruikt met factoren Fase (1, 2, 3, 4) en Cue (CS+ en CS-). In alle tests is een alfa van .05 gebruikt.

III. Resultaten

Eerst is onderzocht of geslacht een effect had op de huidgeleidingsrespons (SCR) tijdens de acquisitie en extinctiefasen. Uit de analyses van huidgeleidingsdata bleek dat er geen significant effect was van geslacht op huidgeleidingsrespons tijdens de acquisitie en extinctiefasen, Wilks' Lambda, $F(3, 126) = 0.98$, $p = .374$. Gender is dus niet van invloed op de huidgeleidingsrespons in de verschillende fasen en er hoeft bij de verdere analyses niet gecontroleerd te worden voor geslacht.

3.1. Huidgeleidingsdata

Om te onderzoeken of er over het algemeen sprake was van een succesvolle conditionering bij de proefpersonen is gekeken of de huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS+ (gevolgd door schok) significant verschilden van de huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS- (niet gevolgd door schok) in de acquisitiefasen. Hiervoor is een herhaalde metingen ANOVA gedaan die de factoren fase (1, 2, 3, 4) en cue (CS+ en CS-) bevatte. Er is in alle acquisitiefasen een significant effect gevonden van de cue op de SCR: Wilks' Lambda, $F(1, 129) = 40.23$, $p < .001$. De huidgeleidingsresponsen als reactie op CS+ en CS- verschillen dus significant van elkaar. In alle fases was de huidgeleidingsrespons als reactie op de CS+ groter dan op de CS- (zie figuur 3.1). Ook is er een sprake van een significant effect van acquisitiefase op de SCR Wilks' Lambda, $F(3,129) = 14.92$, $p < .001$. De huidgeleidingsresponsen verschilden dus significant van elkaar tussen de verschillende acquisitiefasen van de angstconditionering.



Figuur 3.1: Gemiddelde huidgeleidingsresponsen als reactie op CS+ en CS- voor elke fase van de acquisitie (1, 2, 3 en 4), met standaard afwijking.

Om te onderzoeken of de gemiddelde huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS+ en de CS- tijdens de acquisitiefasen verschilden van de huidgeleidingsresponsen tijdens de extinctiefase is een herhaalde metingen ANOVA gedaan die de factoren 'fase' (extinctie en gemiddelde acquisitie) en 'cue' (CS+ en CS-) bevatte. De gemiddelde SCR tijdens de extinctiefase verschilde significant met de SCR tijdens de acquisitiefases Wilks' Lambda, $F(1,127) = 13.56$, $p < .001$, waarbij de SCR tijdens de acquisitiefase voor zowel CS- als CS+ groter was.

3.2. COMT

Om te onderzoeken of met allel homozygoten in de extinctiefase wat betreft huidgeleidingsrespons significant verschillen van val allel homozygoten is een herhaalde metingen ANOVA fase (4) x cue (2) x genotype (2) uitgevoerd om voor de CS+ en CS- per acquisitiefase in het conditioneringsexperiment het effect van de COMT genotypes val en met op de amplitude van de huidgeleidingsresponsen te vergelijken (zie figuur 3.2).

Er is geen significant effect gevonden van COMT genotype op de SCR voor CS+ en CS- tijdens de verschillende acquisitiefases (voor allemaal $p > .359$). Val en met genotypes verschillen dus niet significant van elkaar in huidgeleidingsresponse als reactie op de CS+ en de CS- tijdens de acquisitiefase.

Huidgeleidingsresponsen tijdens acquisitie

	COMT type	Gemiddelde huidgeleidin gsrespons	Standaard afwijking	N
Fase 1 CS-	Val/Val	,175	,175	86
	Met/Met	,071	,069	43
	Total	,099	,149	129
Fase 2 CS-	Val/Val	,071	,119	86
	Met/Met	,055	,091	43
	Total	,066	,111	129
Fase 3 CS-	Val/Val	,046	,096	86
	Met/Met	,031	,055	43
	Total	,041	,084	129
Fase 4 CS-	Val/Val	,041	,134	86
	Met/Met	,029	,065	43
	Total	,037	,116	129
Fase 1 CS+	Val/Val	,158	,167	86
	Met/Met	,130	,163	43
	Total	,149	,166	129

Fase 2 CS+	Val/Val	,146	,204	86
	Met/Met	,160	,248	43
	Total	,150	,219	129
Fase 3 CS+	Val/Val	,110	,196	86
	Met/Met	,113	,171	43
	Total	,111	,188	129
Fase 4 CS+	Val/Val	,121	,177	86
	Met/Met	,112	,231	43
	Total	,118	,196	129

Figuur 3.2: Gemiddelde huidgeleidingsresponsen (in nanosiemens) per fase als reactie op de CS+ en CS- per COMT type tijdens de acquisitie.

Om te onderzoeken of met allel homozygoten in de extinctiefase sterkere huidgeleidingsresponsen vertonen dan val allel dragers is een herhaalde metingen ANOVA fase (2) x cue (2) x genotype (2) uitgevoerd om de amplitude van de huidgeleidingsresponsen van beide groepen tijdens de extinctiefase te vergelijken. Er is een significant effect gevonden van het COMT genotype op de extinctiefase, ($F(1,27) = 6.69, p = .011$). Val en met genotypes verschillen dus significant van elkaar wat betreft huidgeleidingsresponsen als reactie op de cues tijdens de extinctiefase. Val dragers vertonen in de extinctiefase als reactie op CS+ een sterkere huidgeleidingsrespons dan met dragers (respectievelijk gemiddelde .089 en .069; standaard afwijking 0.12 en 0.13 nanosiemens). Tijdens de CS- in de extinctiefase wordt een sterkere gemiddelde huidgeleidingsrespons gemeten voor met dragers dan voor val dragers (respectievelijk gemiddelde .061 en .036; standaard afwijking 0.15 en 0.08 nanosiemens) (zie figuur 3.3).

Huidgeleidingsresponsen tijdens Extinctie

		SCR	Standaard afwijking	N
Gemiddelde Extinctiefase CS-	Val/Val	,036	,079	86
	Met/Met	,061	,149	43
	Total	,044	,108	129
Gemiddelde Extinctiefase CS+	Val/Val	,089	,119	86
	Met/Met	,069	,125	43
	Total	,082	,121	129

Figuur 3.3: Gemiddelde huidgeleidingsresponsen (in nanosiemens) als reactie op de CS+ en CS- per COMT type tijdens de extinctiefasen.

Om te onderzoeken of met allel homozygoten en val dragers tussen de laatste fase van de acquisitie en de extinctiefase grotere verschillen in huidgeleidingsresponsen vertonen dan val allel homozygoten is een herhaalde metingen ANOVA fase (2) x cue (2) x genotype (2) gedaan. Er is geen significant effect gevonden van het COMT genotype op verschillen in SCR tussen de laatste acquisitiefase en de extinctiefase, ($p = .597$).

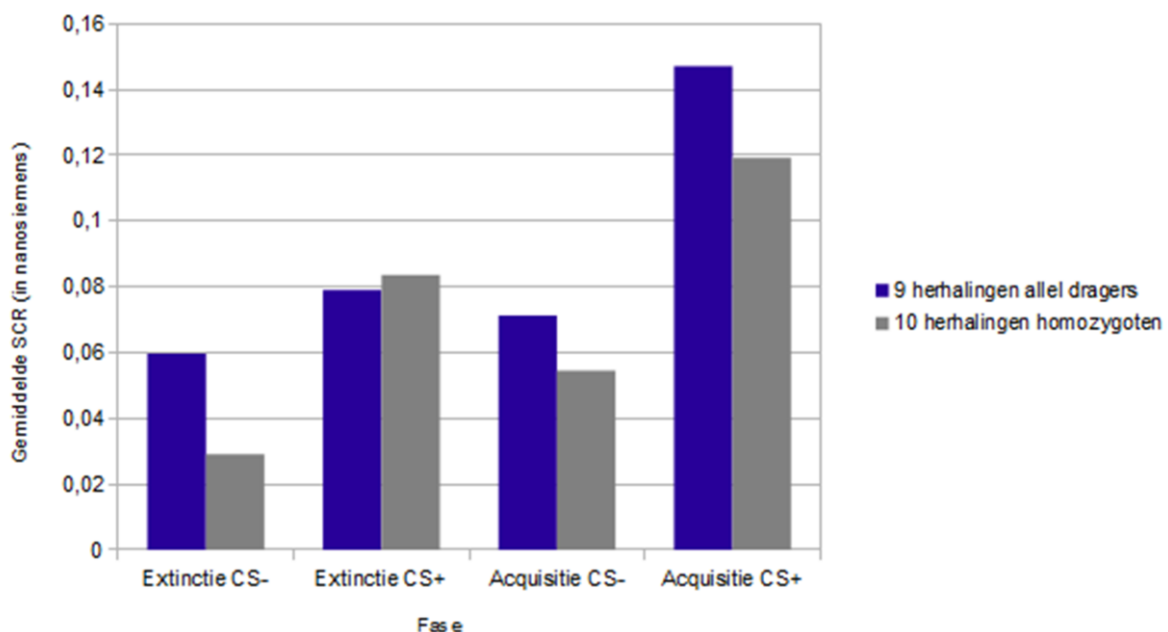
3.3. DAT

Om te onderzoeken of 9-herhalingen allel dragers in de extinctiefase wat betreft huidgeleidingsrespons significant verschillen van 10-herhalingen homozygoten is een herhaalde metingen ANOVA fase (4) x cue (2) x genotype (2) uitgevoerd om voor de CS+ en CS- per acquisitiefase in het conditioneringsexperiment het effect van de DAT genotypes op de amplitude van de huidgeleidingsresponsen te vergelijken.

Er is geen significant effect gevonden van DAT genotype op de SCR voor CS+ en CS- tijdens de acquisitiefases (voor allemaal $p > .103$). Proefpersonen gegenotypeerd als zijnde 9-herhalingen dragers verschillen dus niet significant van 10-herhalingen dragers in huidgeleidingsrespons als reactie op de CS+ en de CS- tijdens de acquisitiefase.

Om te onderzoeken of er in de extinctiefase verschil is in de amplitude van huidgeleidingsresponsen tussen 9 en 10-herhalingen allel dragers is een herhaalde metingen ANOVA fase (2) x cue (2) x genotype (2) uitgevoerd.

Er is een significant effect gevonden van het DAT genotype op de extinctiefase Wilks' Lambda, $F(1,127) = 4.56$, $p = .035$. Draggers van het 9-herhalingen en 10-herhalingen homozygoten verschillen dus significant van elkaar wat betreft huidgeleidingsresponsen als reactie op de cue



Figuur 3.4: Gemiddelde huidgeleidingsrespons (in nanosiemens) als reactie op de CS+ en CS- tijdens de acquisitiefase en de extinctiefase

tijdens de extinctiefase. 10 herhalingen allel homozygoten vertonen in de extinctiefase als reactie op CS+ een sterkere gemiddelde huidgeleidingsrespons dan 9-herhalingen allel dragers (respectievelijk .084 en .079 nanosiemens). Tijdens de CS- in de extinctiefase wordt een sterkere gemiddelde huidgeleidingsrespons gemeten voor 9 herhalingen allel dragers dan voor 10 herhalingen allel dragers (respectievelijk .060 en .029 nanosiemens).

Wanneer de gemiddelde sterkte van de huidgeleidingrespons tijdens de acquisitie vergeleken wordt met de extinctie, is voor beide genotypes een daling in reactie waar te nemen tijdens de extinctiefase, voor zowel de CS+ als de CS-. Draggers van het 9 herhalingen allel laten tijdens de CS+ een grotere daling zien in huidgeleidingsrespons ten opzichte van dragers van het 10 herhalingen allel (zie figuur 3.4).

4.4. Werkgeheugentaak

Er is een t-test voor onafhankelijke steekproeven gebruikt om te kijken of er een verschil is in gemiddelde score op de werkgeheugentaak tussen de verschillende genotypes. Er is geen significant verschil gevonden in gemiddelde score op de werkgeheugentaak tussen val en met genotypes ($p > .597$). Er is ook geen significant verschil gevonden tussen dragers van het DAT1 9-herhalingen en het 10-herhalingen allel ($p > .163$).

IV. Discussie

Deze studie had als doel te onderzoeken in hoeverre individuele variatie in dopamine-gerelateerde polymorfismen de mate van conditionering van angst gerelateerde stimuli verklaart. 130 proefpersonen deden een conditioneringsexperiment, terwijl ze tegelijkertijd een n-back werkgeheugentaak uitvoerden. De proefpersonen werden gegenotypeerd aan de hand van de polymorfismen COMTval158met en DAT1vntr. De angstconditionering werd gemeten aan de hand van huidgeleidingsresponsen.

4.1. COMT

De uitkomsten van dit onderzoek laten geen significante invloed zien van variatie in COMT polymorfismen op huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS+ en de CS- tijdens de acquisitiefase van het conditioneringsexperiment.

Uit eerder onderzoek bleek dat er bij met/met dragers in de extinctiefase sprake is van sterkere angstresponsen dan bij val/val dragers (Haaker et al., 2013). De verwachting was dat met dragers tijdens de extinctie grotere huidgeleidingsresponsen zouden vertonen dan val dragers, en er sprake zou zijn van slechtere extinctie.

De gemiddelde huidgeleidingsrespons op CS+ tijdens de acquisitiefase was voor val en met dragers nagenoeg gelijk (respectievelijk .138 en .133 nanosiemens, standaard afwijking 0.17 en 0.19 nanosiemens). Val dragers vertoonden echter als reactie op de CS+ tijdens de extinctiefase een sterkere huidgeleidingsrespons dan met dragers (respectievelijk .089 en .069 nanosiemens; standaard afwijking 0.12 en 0.13 nanosiemens), wat erop kan wijzen dat val dragers minder extinctie tonen met betrekking tot de CS+ dan met dragers. Echter, tijdens de CS- in de extinctiefase werd een sterkere gemiddelde huidgeleidingsrespons gemeten voor met dragers dan voor val dragers (respectievelijk gemiddelde = .061 en .036 nanosiemens; standaard afwijking = 0.15 en 0.08 nanosiemens). Deze huidgeleidingsrespons was zelfs groter dan de SCR als reactie op de CS- tijdens de acquisitiefase. Dit zou kunnen wijzen op het onvermogen de adequate associaties te leren tussen een de voorspellende cue (CS) en een aversieve stimulus (UCS) (Mineka & Oehlberg, 2008), waardoor deze participanten in een onvoorspelbare situatie blijven en sterke huidgeleidingsresponsen blijven vertonen als reactie op elke CS (zowel de CS+ en de CS-), ook wanneer deze een 'veilig' signaal afgeeft (Iberco et al., 2008).

Vanuit de warrior/worrier hypothese (Goldman, 2005) was de verwachting dat met homozygoten betere cognitieve prestaties met betrekking tot o.a. het werkgeheugen zouden tonen. De hypothese was dan ook dat proefpersonen gegenotypeerd als met allel dragers beter zouden scoren op de werkgeheugen test, maar dat val allel dragers beter presteren in een bedreigende omgeving. Er werd echter geen significant verschil gevonden in gemiddelde score

op de werkgeheugentaak tussen val allel dragers en met homozygoten ($p > .597$). Ook wanneer de genotype-groepen in val/val, val/met en met/met werden verdeeld waren de verschillen tussen de groepsgemiddelden niet significant ($p > .627$). Wel bleken val dragers gemiddeld enigszins hoger te scoren (gemiddelde = 16.97, st. afwijking = 3.6) dan met genotypes (gemiddelde = 16,63, standaard afwijking = 3.1). Vanuit de warrior/worrier hypothese zou dit te verklaren zijn doordat volgens deze hypothese dragers van het val allel met name goed zouden functioneren in een bedreigende omgeving waar optimale prestatie vereist is ondanks gevaar. Gezien de constante dreiging van de CS+ tijdens dit experiment, zou de verbeterde prestatie van val dragers hieraan toe te schrijven kunnen zijn. Om hier een eenduidige conclusie over te kunnen trekken zou echter meer onderzoek gedaan moeten worden naar de verschillen in prestaties van val en met allel dragers op cognitieve (werkgeheugen)taken onder bedreigende en niet-bedreigende omstandigheden.

4.2. DAT

De uitkomsten van dit onderzoek laten geen significante invloed zien van variatie in DAT1 polymorfismen op huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS+ en de CS- tijdens de acquisitiefase van het conditioneringsexperiment. Proefpersonen gegenotypeerd als zijnde 9-herhalingen dragers verschilden tijdens deze fase van het experiment niet significant van 10-herhalingen homozygoten wat betreft huidgeleidingsresponsen.

Onze hypothese was dat er bij dragers van het 10-herhalingen allel sprake zou zijn van minder extinctie en slechtere angstconditionering ten opzichte van 9-herhalingen allel dragers. Tijdens de extinctiefase was er inderdaad een significant verschil in huidgeleidingsresponsen tussen 9-herhalingen allel dragers en 10-herhalingen allel dragers. Draggers van het 9 herhalingen allel lieten tijdens extinctie een grotere daling zien in huidgeleidingsrespons als reactie op de CS- en CS+ ten opzichte van dragers van het 10 herhalingen allel. Dit wijst op een betere extinctie door 9 herhalingen dragers. Dit is in lijn met onderzoek van Raczka et al. (2011) waaruit bleek dat dragers van het 9-herhalingen allel betere extinctie vertonen dan dragers van het 10-herhalingen allel.

Voor dragers van het DAT1 9-herhalingen en het 10-herhalingen allel werd geen significant verschil gevonden in gemiddelde score op de werkgeheugentaak ($p > .163$).

4.3. Beperkingen

De geconditioneerde angstreactie werd in deze studie gemeten aan de hand van huidgeleidingsresponsen. Huidgeleiding wordt vaak gebruikt als een maat van emotionele arousal en andere affectieve processen. Bepaalde breingebieden zoals de amygdala, hippocampus, basale ganglia en de prefrontale cortex blijken in het bijzonder van belang te

zijn voor huidgeleidingsresponsen op stimuli die een bepaalde emotionele waarde hebben gekregen door eerdere ervaringen (Nagvi & Bechara, 2006). Een nadeel van het meten van huidgeleiding is dan ook dat het geen meting is van een enkel proces, maar dat het meerdere processen kan reflecteren (Figner & Murphy, 2010). Het is dus moeilijk te zeggen of elke huidgeleidingsreactie van een proefpersoon daadwerkelijk een reactie is op een gebeurtenis binnen het experiment.

4.4. Conclusie

De resultaten van deze studie kunnen geen volledig antwoord geven op de onderzoeksvraag in hoeverre individuele variatie in polymorfismen omtrent dopamine (COMT_{val158}met en DAT1_{vntr}) de mate van conditionering van angst gerelateerde stimuli kan verklaren.

In dit onderzoek wordt aangetoond dat individuele verschillen in dopamine gerelateerde polymorfismen tijdens de extinctie verschillen in huidgeleidingsresponsen kunnen verklaren. Zowel varianten in COMT (val en met) als in DAT (9 en 10- herhalingen dragers) verschillen in dit onderzoek significant van elkaar tijdens de extinctiefase in het conditioneringsexperiment. Deze verschillen worden echter niet waargenomen tijdens de acquisitiefase van het angstconditioneringsexperiment. De variatie in het COMT polymorfisme (val en met dragers) verschillen tijdens de acquisitiefase van angstconditionering niet significant van elkaar in huidgeleidingsresponsen als reactie op de CS+ en de CS-. Ook de varianten van de dopaminetransporter DAT1 (9 en 10-herhalingen dragers) verschillen niet significant van elkaar wat betreft huidgeleidingsresponsen tijdens de acquisitiefase.

Enkele belangrijke hypothesen van dit onderzoek met betrekking tot de acquisitiefase van de conditionering konden niet bevestigd worden. Er bleek geen betere angstconditionering tijdens de acquisitiefase bij participanten die als met genotype geclassificeerd waren ten opzicht van proefpersonen die als val genotype geclassificeerd waren. Mogelijk zijn er meer proefpersonen nodig om tot significante resultaten te komen, en is een striktere scheiding tussen de verschillende varianten van COMT een vereiste. Om het onderzoek statistisch sterker te maken zijn de deelnemers geclassificeerd als val-allel [n= 86] drager of als met homozygoot [n= 43]. Bij voldoende proefpersonen zou een verdeling in val/val, val/met en met/met wellicht tot sterkere conclusies kunnen leiden.

V. Referenties

- Baas, J.M.P., van Ooijen, L., Goudriaan, A. and Kenemans, J.L. (2008). Failure to condition to a cue is associated with sustained contextual fear. *Acta psychologica, Volume 127, Issue 3, pp: 581-592.*
- Berman, K., Dreher, J., Kohn, P., Kolachana, B., Weinberger, D. (2009). Variation in dopamine genes influences responsivity of the human reward system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), Volume: 106, Issue: 2, pp: 617-622.*
- Bilder, R.M., Volavka, J., Lachman, H.M., Grace, A.A. (2004). The catechol-O-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology, 29, pp: 1943-1961.*
- Blasi G., Mattay V.S., Bertolino A., et al. (2005). Effect of catechol-O-methyltransferase val158met genotype on attentional control. *Journal of Neuroscience, 25, pp: 5038-5045.*
- Bouton M.E. (1993). Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychological Bulletin, Volume 114, Issue 1, pp: 80-99.*
- Bouton M.E. (2004). Context and behavioral processes in extinction. *Neurobiology of Learning and Memory 11, pp: 485-494.*
- Bouton M.E., Westbrook R.F., Corcoran K.A., Maren S. (2006). Contextual and temporal modulation of extinction: Behavioral and biological mechanisms. *Biological Psychiatry 60, pp: 352-360.*
- Castner, S.A. & Williams, G.V., (2007). Tuning the engine of cognition: a focus on NMDA/D1 receptor interactions in prefrontal cortex. *Brain Cognition, 63, pp: 94-122.*
- Chen J., Lipska B.K., Halim N., Ma Q.D., Matsumoto M., Melhem S., et al. (2004) Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *American Journal of Human Genetics, 75, pp: 807-21.*
- Coco, M.L., Kuhn, C.M., Ely, T.D., Kilts, C.D. (1992). Selective activation of mesoamygdaloid dopamine neurons by conditioned stress: attenuation by diazepam. *Brain Research 590, pp: 39-47.*

- Crider, A., Kremen, W.S., Xian, H., Jacobson, K.C., Waterman, B., Eisen, S.A. et al. (2004), Stability, consistency, and heritability of electrodermal response lability in middle-aged male twins. *Psychophysiology*, 41, pp. 501–509.
- Dawson, M. E., Schell, A. M., & Filion, D. L. (2000). The electrodermal system. In J. T. Cacioppo, L. G. Tassinary, & G. G. Berntson (Eds.), *Handbook of psychophysiology (2nd ed., pp. 200–223)*. New York: Cambridge University Press.
- Delamater, A.R. (1997) Selective reinstatement of stimulus-outcome associations *Animal Learning & Behavior*, 25, pp: 400–412
- Domschke, K. (2004), Freitag C.M., Kuhlenbaumer G., et al. (2004) Association of the functional V158M catechol-O-methyl-transferase polymorphism with panic disorder in women. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7, pp. 183-188.
- Domschke, K. & Dannlowski, U. (2010). Imaging genetics of anxiety disorders. *Neuroimage*, 53, pp: 822–831.
- Domschke, K., Baune, B.T., Havlik, L., Stuhrmann, A., Suslow, T., Kugel, H., Zwanzger, P., Grotegerd, D., Sehmeyer, C., Arolt, V. and Dannlowski, U. (2012). Catechol-O-methyltransferase gene variation: Impact on amygdala response to aversive stimuli. *NeuroImage*, Volume: 60, Issue: 4, pp: 2222-2229.
- Drabant, E.M., Hariri, A.R., Meyer-Lindenberg, A., Munoz, K.E., Mattay, V.S., Kolachana, B.S., Egan, M.F., Weinberger, D.R. (2006). Catechol O-methyltransferase val158met genotype and neural mechanisms related to affective arousal and regulation. *Archives of General Psychiatry* 63, pp: 1396–1406.
- van Dyck, C. H., Malison, R. T., Jacobsen, L. K., Seibyl, J. P., Staley, J. K., Laruelle, M., et al. Gelernter, J. (2005). Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *Journal of Nuclear Medicine*, 46, 745–751.
- Egan M.F., Goldberg T.E., Kolachana B.S., Callicott J.H., Mazzanti C.M., Straub R.E., et al. (2001). Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, pp: 6917–22.
- Fanselow, M.S., & Poulos, A.M. (2005). The neuroscience of mammalian associative learning. *Annual Review of Psychology*, 56, pp: 207–234.

- Figner, B., & Murphy, R. O. (2010). Using skin conductance in judgment and decision making research. In: M. Schulte-Mecklenbeck, A. Kuehberger, & R. Ranyard (Eds.), *A handbook of process tracing methods for decision research*. New York, NY: Psychology Press.
- Goldberg T.E., Egan M. F, Gscheidle T., Coppola R., Weickert T., Kolachana B.S. et al. (2003). Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 60, pp: 889–896.
- Goldman D., Oroszi G., Ducci F. (2005). The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nature Reviews Genetics* 6, pp: 521-532.
- Graham B.M., Milad M.R. (2011) The Study of Fear Extinction: Implications for Anxiety Disorders. *American Journal of Psychiatry*, 168, pp: 1255–1265.
- Guarraci, F.A., Frohardt, R.J. and Kapp, B.S. Amygdaloid D1 dopamine receptor involvement in Pavlovian fear conditioning (1999). *Brain research*, Volume 827, Issue: 1-2, pp: 28-40.
- Haaker, J., Gaburro, S., Sah, A., Gartmann, N., Lonsdorf, T.B., Meier, K., Singewald, N., Pape, H.-C., Morellini, F., Kalisch, R. (2013). Single dose of L-dopa makes extinction memories context-independent and prevents the return of fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, pp: 2428-2436.
- Hamm, A.O. & Weike, A.I. (2005) The neuropsychology of fear learning and fear regulation. *International Journal of Psychophysiology*, 57, pp: 5–14.
- Harris, J.A., Jones, M.L., Bailey, G.K., Westbrook, F. R. (2000). Contextual control over conditioned responding in an extinction paradigm. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, Volume 26, Issue 2, pp: 174-185.
- Heitland I., Oosting R.S., Baas J.M., Massar S.A., Kenemans J.L., Bocker K.B. (2012) Genetic polymorphisms of the dopamine and serotonin systems modulate the neurophysiological response to feedback and risk taking in healthy humans. *Cognitive, Affective, and Behavioral Neuroscience*, 12, pp: 678–91.
- Heitland, I., Kenemans, J.L., Oosting, R.S., Baas, J.M.P., Böcker, K.B.E. (2013). Auditory event-related potentials (P3a, P3b) and genetic variants within the dopamine and serotonin system in healthy females. *Behavioural Brain Research* 249, pp: 55– 64.

- Hettema, J.M., Peter Annasc, Michael C. Nealea, Mats Fredriksonc, Kenneth S. Kendlera. (2008). The Genetic Covariation Between Fear Conditioning and Self-Report Fears. *Biological Psychiatry*. Volume 63, Issue 6, pp: 587–593.
- Holtzman-Assif O., Laurent V., Westbrook R.F. (2010). Blockade of dopamine activity in the nucleus accumbens impairs learning extinction of conditioned fear. *Learning and memory*, Volume: 17, Issue: 2, pp: 71-75.
- Iberico, C., Vansteenwegen, Vervliet, D.B, Dirikx, T. Marescau, V., Hermans, D. (2008). The development of cued versus contextual conditioning in a predictable and an unpredictable human fear conditioning preparation. *Acta Psychologica*, 127, pp: 593–600.
- Kaenmaki, M., Tammimaki, A., Myohanen, T., Pakarinen, K., Amberg, C., Karayiorgou, M., Gogos, J.A., Mannisto, P.T. (2010) Quantitative role of COMT in dopamine clearance in the prefrontal cortex of freely moving mice. *Journal of Neurochemistry*, 114, pp: 1745–1755.
- Kienast, T. et al. (2008). Dopamine in amygdala gates limbic processing of aversive stimuli in humans. *Nature Neuroscience*, 11, pp: 1381 - 1382.
- Klumpers F., Raemaekers M.A., Ruigrok A.N., Hermans E.J., Kenemans J.L., Baas J.M. (2010) Prefrontal mechanisms of fear reduction after threat offset. *Biological Psychiatry*, 68, pp: 1031–1038.
- Lachman H.M., et al. (1996). Human COMT pharmacogenetics: Description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics*, 6, pp: 243–250.
- LeDoux, J. (2003). The Emotional Brain, Fear, and the Amygdala. *Cellular and Molecular Neurobiology*, Volume 23.
- LeDoux, J. (2007). The amygdala. *Current Biology* 17, pp: 868–874.
- Lelli-Chiesa, G., Kempton, M.J., Jogia, J., Tatarelli, R., Girardi, P., Powell, J., Collier, D.A., Frangou, S. (2011). The impact of the Val158Met catechol-O-methyltransferase genotype on neural correlates of sad facial affect processing in patients with bipolar disorder and their relatives. *Psychological Medicine*, 41, pp: 779–788.

- Lissek, S., Powers, A.S., McClure, E.B., Phelps, E.A., Woldehawariat, G., Grillon, C., & Pine, D.S. (2005). Classical fear conditioning in the anxiety disorders: A meta-analysis. *Behaviour Research and Therapy*, 43, pp: 1391–1424.
- Lonsdorf, T. B., Weike, A. I. and Nikamo, P. (2009). Genetic Gating of Human Fear Learning and Extinction: Possible Implications for Gene-Environment Interaction in Anxiety Disorder. *Psychological science*, Volume 20, Issue 2, pp: 198 – 207.
- Lotta T., Vidgren J., Tilgmann C., Ulmanen I., Melen K., Julkunen I., et al. (1995). Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry*, 34, pp: 4202–10.
- Männistö, P., Yavich, L., Forsberg, M., Karayiorgou, M., Gogos, J. (2007). Site-Specific Role of Catechol-O-Methyltransferase in Dopamine Overflow within Prefrontal Cortex and Dorsal Striatum. *Journal of neuroscience*, Volume: 27, Issue: 38, pp: 10196-10209.
- Maren, S. (2001). Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annual Review of Neuroscience*, 24, pp: 897–931.
- Matsumoto M., Weickert C.S., Akil M., Lipska B.K., Hyde T.M., Herman M.M., et al. (2003). Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience* 116, pp: 127–137.
- Milad, M.R. & Quirk G.J. (2002). Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 420, pp: 70–74.
- Mill, J., Asherson, P., Browes, C., D’Souza, U., & Craig, I. (2002). Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *American Journal of Medical Genetics*, 114, pp: 975–979.
- Mineka, S. & Oehlberg, K. (2008). The relevance of recent developments in classical conditioning to understanding the etiology and maintenance of anxiety disorders. *Acta Psychologica*, 127, pp: 567–580.
- Mueller D. & Quirk G.J. (2008). Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology* 33, pp: 56–72.

- Mueller D., Bravo-Rivera C., Quirk G.J. (2010). Infralimbic D2 receptors are necessary for fear extinction and extinction-related tone responses. *Biological Psychiatry Volume 68, Issue 11, pp: 1055–1060.*
- Myers K.M. & Davis M. (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron, volume 36, pp: 567–584.*
- Myers K.M. & Davis M. (2007). Mechanisms of fear extinction. *Molecular Psychiatry Volume: 12, Issue: 2, pp: 120–150.*
- Naqvi, N. H., & Bechara, A. (2006). Skin conductance: A psychophysiological approach to the study of decision making. In C. Senior, T. Russell & M. S. Gazzaniga (Eds.), *Methods in mind: The MIT Press.*
- Norrholm, S. D., Jovanovic, T., Smith, A.K., Binder, E., Klengel, T., Conneely, K., Mercer, K.B., Davis, J.S., Kerley, K., Winkler, J., Gillespie, C.F., Bradley, B., Ressler, K.J. (2013). Differential Genetic and Epigenetic Regulation of catechol-O-methyltransferase is associated with impaired fear inhibition in posttraumatic stress disorder. *Frontiers in behavioral neuroscience, Vol.7, pp: 30.*
- Orr, S.P., Metzger, L.J., Lasko, N.B., Macklin, M.L., Peri, T., Pitman, R.K. (2000). De novo conditioning in trauma-exposed individuals with and without posttraumatic stress disorder. *Journal of Abnormal Psychology, 109, pp: 290–298.*
- Phillips, G.D., Salusolia, E. & Hitchcott, P.K. (2010). Role of the mesoamygdaloid dopamine projection in emotional learning. *Psychopharmacology, 210, pp: 303–316.*
- Pape, H.C. & Pare, D. (2010). Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. *Physiological Reviews, Volume 90, Issue 2, pp: 419-463.*
- Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., et al. (ed). (2001). *Neuroscience. 2nd edition.* Sunderland (MA), Sinauer Associates.
- Reid, A.A., & Gonzalez-Vallejo, C. (2009). Emotion as a tradeable quantity. *Journal of Behavioral Decision Making, 22, pp: 62-90.*

- Rasch, B., Spalek, K., Buholzer, S., Luechinger, R., Boesiger, P., de Quervain, D.J.F. and Papassotiropoulos, A. (2010). Aversive stimuli lead to differential amygdala activation and connectivity patterns depending on catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype. *NeuroImage*, Volume 52, Issue 4, pp: 1712-1719.
- Raczka, K.A., Mechias, M., Gartmann, N., Reif, A., Deckert, J., Pessiglione, M., Kalisch, R. (2011). Empirical support for an involvement of the mesostriatal dopamine system in human fear extinction. *Translational psychiatry*, Volume 1, pp: 12.
- Sajikumar S., Frey J.U. (2004). Late-associativity, synaptic tagging, and the role of dopamine during LTP and LTD. *Neurobiological Learning and Memory*, Volume 82, Issue 1, pp: 12-25.
- Smolka M.N., Schumann G., Wrase J., et al. (2005). Catechol-O-methyltransferase val158met genotype affects processing of emotional stimuli in the amygdala and prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 25, pp: 836-842.
- Smolka, M.N., Buhler, M., Schumann, G., Klein, S., Hu, X.Z., Moayer, M., Zimmer, A., Wrase, J., Flor, H., Mann, K., Braus, D.F., Goldman, D., Heinz, A. (2007). Gene-gene effects on central processing of aversive stimuli. *Molecular Psychiatry* 12, pp: 307-317.
- Stein, D., Newman, T., Savitz, J., Ramesa, R/ (2006). Warriors versus worriers: the role of COMT gene variants. *CNS Spectrums: The International Journal of Neuropsychiatric Medicine*, 11, pp: 745-748
- Tessitore A., Hariri A.R., Fera F., Smith W.G., Chase T.N., Hyde T.M., Weinberger D.R., Mattay V.S. (2002). Dopamine modulates the response of the human amygdala: a study in Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology*, 27, pp: 9099-9103.
- Tronson, N.C., Corcoran, K.A., Jovasevic, V., Radulovic, J. (2012) Fear conditioning and extinction: emotional states encoded by distinct signaling pathways. *Trends in Neuroscience*, 35, pp: 145-155.
- Valente N.L., Vallada H., Cordeiro Q., Bressan R.A., Andreoli S.B., Mari J.J., et al. (2011). Catechol-O-methyltransferase (COMT) val158met polymorphism as a risk factor for PTSD after urban violence. *Journal of Molecular Neuroscience*, Volume 43, pp: 516-523.

- VanNess S.H., Owens M.J., Kilts C.D. (2005). The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genetics* 6, 55.
- Wayment H.K., Schenk J.O., Sorg B.A. (2001). Characterization of extracellular dopamine clearance in the medial prefrontal cortex: role of monoamine uptake and monoamine oxidase inhibition. *Journal of Neuroscience*, 21, pp: 35–44.
- Wijnen, F. & Verstraten, F. (red.). (2008). Het brein te kijk: verkenning van de cognitieve neurowetenschap. Pearson: Amsterdam.
- Woo J. M., Yoon K.S., Choi Y.H., Oh K.S., Lee Y.S., Yu B.H. (2004). The association between panic disorder and the L/L genotype of catechol-O-methyltransferase. *Journal of Psychiatric Research*, Volume 38, pp: 365–370.
- Yavich L., Forsberg M. M., Karayiorgou M., Gogos J. A. and Männistö P. T. (2007). Sitespecific role of catechol-O-methyltransferase in dopamine overflow within prefrontal cortex and dorsal striatum. *Journal of Neuroscience*, 27, pp: 10196-10209.
- Zhang, X., Lee, M.R., Salmeron, B.J., Stein, D.J., Hong, L.E., Geng, X., Ross, T.J., Li, N., Hodgkinson, C., Shen, P.H., Yang, Y., Goldman, D., Stein, E.A. (2013). Prefrontal white matter impairment in substance users depends upon the catechol-o-methyl transferase (COMT) val158met polymorphism. *NeuroImage*, Volume: 69, pp: 62-69.
- Zubieta J.K., Heitzeg M.M., Smith Y.R., et al. (2003) COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science*, 299, pp: 1240-1243.