



Universitat de Barcelona
Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica

INFLUÈNCIA DE LES VARIANTS GENÈTIQUES DE LA COMT I EL DAT EN L'ACTIVACIÓ CEREBRAL I EN EL PROCESSAMENT COGNITIU I EMOCIONAL

PROGRAMA DE DOCTORAT: NEUROCIÈNCIES
BIENNI: 2002-2004

Tesi presentada per

Xavier Caldú i Ferrús

per obtenir el grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Tesi dirigida pel Dr. Pere Vendrell Gómez

Barcelona, setembre de 2007

El **Dr. Pere Vendrell Gómez**, professor del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica de la Universitat de Barcelona, declara que ha supervisat aquesta tesi doctoral, titulada *Influència de les variants genètiques de la COMT i el DAT en l'activació cerebral i en el processament cognitiu i emocional* i presentada per Xavier Caldú i Ferrús. Així mateix, declara que aquesta tesi compleix els requisits necessaris per ser defensada per obtenir el grau de Doctor.

Signatura,

Dr. Pere Vendrell Gómez
Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica
Universitat de Barcelona
Barcelona, setembre de 2007

Aquesta tesi ha estat realitzada gràcies a les beques 2003 FI 00191 a Xavier Caldú i Ferrús i 2005 SGR 00855 al grup de recerca *Neuropsicologia* del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica de la Universitat de Barcelona, ambdues concedides per la Generalitat de Catalunya.

A tots aquells que han col·laborat d'una manera o altra, en major o menor mesura, conscientment o inconscient a la realització d'aquesta tesi, gràcies.

Primerament, haig d'agrair al Dr. Pere Vendrell el poder haver dut a terme aquesta tesi. Per haver estat allà al llarg del camí i fer que no pugui dir que m'he sentit sol davant els dubtes en cap moment. A la Dr. Carme Junqué, perquè quan no hi ha estat el Pere, hi ha estat ella. A tots dos, gràcies.

Gràcies també als companys del Clínic. Al David Bartrés, a més de pel seu paper important en la realització dels estudis, pel seu tracte senzill des del primer dia. A la Cristina. A la Blanca. A la Mònica, amb qui el fet de començar plegats no pot ser l'única raó de l'afecte que li tinc. A la Giusi, a la Naroa, al Benjamí, a la Davinia. A la Pilar Bouzas. A la Wilma. A la Sara. Senzillament, per fer còmodes, fàcils i tranquils els moments allà. I a aquelles que quan hi han estat, també hi han col·laborat. La Rocío, la Bea, la Cristina Sánchez. A la Maria.

A la Pilar, gràcies també, com no. Perquè les meves primeres passes les vaig fer recolzant-me en ella. I per, malgrat la distància, continuar a prop.

Al Carles Falcón per donar sempre, sempre, un cop de mà. I a més fer-ho sempre de manera afable.

A la Núria. Si amb la Mònica vaig fer classes amb la Núria vaig fer ressos. Força estona plegats. Però tampoc pot ser que això sigui tot.

Un record i agraïments també a la gent de Mundet. Perquè mentre he estat allà m'he sentit d'allà. Al Pep, a la Maria Àngels i a la Imma per la seva important participació en els estudis, però també pel molt bon tracte rebut. A la Roser, a les Mars,

la Mar Ariza i la Mar Matarín. A la Maria Mataró, a la Dolors, a l'Ana i a la Marta. A la Míriam i al Lluís. A la Bàrbara. A tots ells i als que no apareixen, gràcies pel tracte rebut durant les meves estones allà i, alguna vegada, fora d'allà.

També voldria mostrar el meu agraïment al personal dels Serveis Mèdics de Mundet i dels Serveis Científico-Tècnics de la Universitat de Barcelona. Agrair també la dedicació de la gent de la "resso". A tots els que un dia o altre els ha tocat estar davant la màquina, i especialment als tres més habituals: al Pere, al Santi i al César. I a la Núria Bargalló.

No m'oblido de l'agraïment a totes aquelles persones que han format la mostra d'aquest estudi i a aquelles que per un motiu o altre, malgrat voler-ho, no van poder formar-ne part.

Ja que hi som, un record i agraïment per a la colla de Sant Boi i Barcelona i alguna de Blanes. De col·laboració en la tesi, poca, perquè mentir. És cert que en alguns casos no per manca de ganes. Ara bé, fora del laboratori...

Com és obvi, l'agraïment a la família, però a ells els hauria d'agrair massa coses, no només relacionades amb la tesi, com per posar-m'hi ara.

A tots aquells que m'hagi descuidat, disculpes i gràcies també.

xavier

ÍNDEX

ÍNDEX

Glossari d'abreviatures	xiii
1. INTRODUCCIÓ	3
1.1. Síntesi de la dopamina	3
1.2. Exocitosi	4
1.3. Tipus de receptors dopaminèrgics	5
1.4. Eliminació de la dopamina	7
1.4.1. El transportador de la dopamina	8
1.4.2. La catecol-o-metiltransferasa	12
1.5. Localització i vies de les neurones dopaminèrgiques	16
1.6. Dopamina i cognició: memòria de treball, flexibilitat i atenció	18
1.6.1. La memòria de treball	18
1.6.2. La flexibilitat	27
1.6.3. L'atenció	33
1.7. Dopamina i emocions	34
1.8. Dopamina i patologia	38
1.8.1. Dopamina i esquizofrènia	39
1.8.2. Dopamina i trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat	43
1.9. Genètica, dopamina i patologia	45
1.9.1. Lligament entre el genotip de la COMT i l'esquizofrènia	45
1.9.2. Lligament entre el genotip del DAT i el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat	46
1.10. Estudi de la influència genètica a través de la neuroimatge	48
2. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS	53
2.1. Estudi N-back	54
2.1.1. Objectiu	54
2.1.2. Hipòtesis	54
2.2. Estudi Emocions	55
2.2.1. Objectiu	55
2.2.2. Hipòtesis	56

3. MATERIALS I MÈTODES	59
3.1. Aspectes comuns als dos estudis	59
3.1.1. Subjectes	59
3.1.2. Screening	59
3.1.3. Estimació del quocient intel·lectual	60
3.1.4. Determinació dels genotips	60
3.1.4.1. Determinació del genotip de la COMT	60
3.1.4.2. Determinació del genotip del DAT	61
3.1.5. Característiques de l'adquisició d'imatges de ressonància magnètica	62
3.1.5.1. Ressonància magnètica estructural	62
3.1.5.2. Ressonància magnètica funcional	62
3.1.6. Processament i anàlisi estadística de les imatges	63
3.2. Aspectes específics de cada estudi	65
3.2.1. Estudi N-back	65
3.2.1.1. Subjectes	65
3.2.1.2. Exploració neuropsicològica	65
3.2.1.2.1. Continuous Performance Test	66
3.2.1.2.2. Wisconsin Card Sorting Test	66
3.2.1.3. Tasca de ressonància magnètica funcional	67
3.2.1.4. Anàlisi estadística de les imatges	68
3.2.1.5. Anàlisi estadística de les variables conductuals	68
3.2.2. Estudi Emocions	69
3.2.2.1. Subjectes	69
3.2.2.2. Tasca de ressonància magnètica funcional	69
3.2.2.3. Anàlisi estadística de les imatges	71
4. RESULTATS	75
4.1. Resultats de l'estudi N-back	75
4.1.1. Resultats conductuals	75
4.1.2. Patró d'activació	77
4.1.3. Regressió	79
4.2. Resultats de l'estudi Emocions	81
4.2.1. Patró d'activació	82
4.2.2. Anàlisi de la variància	83

5. DISCUSSIÓ	87
5.1. Discussió de l'estudi N-back	87
5.2. Discussió de l'estudi Emocions	94
6. DISCUSSIÓ GENERAL	101
7. CONCLUSIONS	107
8. REFERÈNCIES	111
ANNEX	149

GLOSSARI D'ABREVIATURES

GLOSSARI D'ABREVIATURES

ADN	àcid desoxiribonucleic
AMPc	adenosina monofosfat cíclic
ARNc	àcid ribonucleic complementari
ARNm	àcid ribonucleic missatger
ATP	adenosina trifosfat
BA	àrea de Brodmann
BOLD	<i>blood oxygen level dependent</i>
COMT	catecol-o-metiltransferasa
CPT	<i>Continuous Performance Test</i>
DAT	<i>dopamine transporter</i>
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
EPI	<i>echoplanar imaging</i>
FOV	<i>field of view</i>
FSPGR	<i>fast spoiled gradient</i>
FWE	<i>familij wise error</i>
FWHM	<i>full width at half maximum</i>
GABA	àcid gammaaminobutíric
L-DOPA	L-dihidroxifenilalanina
NEX	número d'excitacions
PCR	<i>polimerase chain reaction</i>
PET	<i>positron emission tomography</i>
RMf	ressonància magnètica funcional
SCID	<i>Structured Clinical Interview for DSM</i>
TDAH	trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat
TE	temps d'eco
TI	temps d'inversió
TR	temps de repetició
VNTR	<i>variable number tandem repeats</i>
WAIS	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale</i>
WCST	<i>Wisconsin Card Sorting Test</i>

INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

D'entre totes les catecolamines, la dopamina és la més important del sistema nerviós central, on regula funcions com la conducta motora (Mattay *et al.*, 2002), les emocions (Salgado-Pineda *et al.*, 2005) i la cognició (Williams i Goldman-Rakic, 1995; Mattay *et al.*, 2002; Seamans i Yang, 2004). Donada la implicació del sistema dopaminèrgic en diverses disfuncions cerebrals, com ara l'esquizofrènia (Harrison, 1999), la malaltia de Parkinson (Goetz *et al.*, 2001), el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat (TDAH) (Biederman i Faraone, 2005; Thapar *et al.*, 2005) o l'abús de substàncies (Robinson i Berridge, 1993), l'estudi d'aquest sistema ha esdevingut de gran importància.

1.1. Síntesi de la dopamina

Com la resta de catecolamines, la dopamina està composta per un nucli catecol, format per un anell de benzè amb dos hidroxils, més una cadena d'etilamina. La dopamina es sintetitza a partir de l'aminoàcid tirosina, el qual s'obté a partir de l'aminoàcid fenilalanina, mitjançant l'enzim fenilalanina-hidroxilasa. El procés de síntesi de la dopamina es duu a terme a les terminals nervioses de les neurones dopaminèrgiques, on es troben els enzims implicats

en aquest procés: la tirosina-hidroxilasa i la descarboxilasa d'aminoàcids aromàtics. La tirosina-hidroxilasa és l'enzim limitador de la síntesi de la dopamina (Nagatsu *et al.*, 1964; Levitt *et al.*, 1965). Es tracta d'una oxidasa que transforma la tirosina en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). Per a aquesta reacció són necessaris la tirosina i l'oxigen com a substrats i la tetrahidrobiopterina com a cofactor per afegir un grup hidroxil a l'aminoàcid, a més de l'ió ferro (Fe^{2+}). Seguidament, l'L-DOPA és descarboxilada per l'enzim descarboxilasa i dona lloc a la dopamina (Kandel *et al.*, 2000) (**Figura 1**).

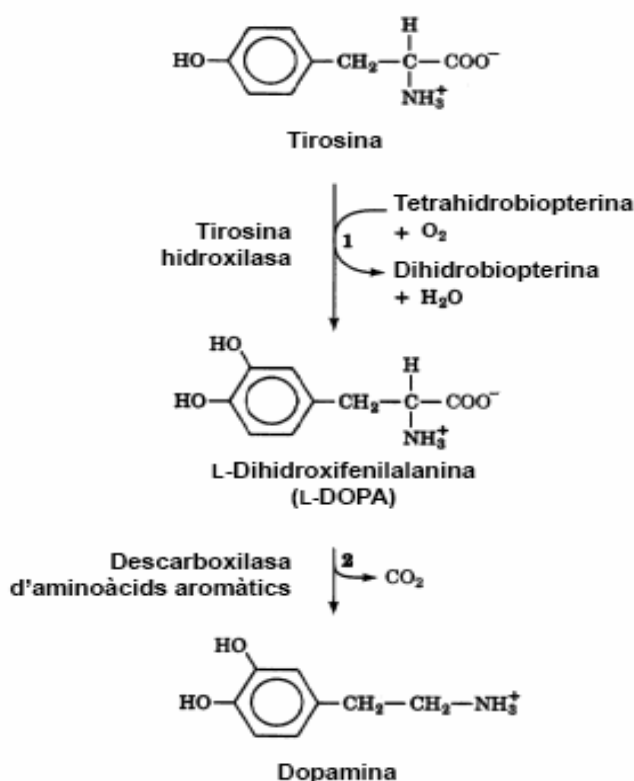


Figura 1. Biosíntesi de la dopamina a partir de l'aminoàcid tirosina.

1.2. Exocitosi

La dopamina sintetitzada al citoplasma de les terminals dopaminèrgiques s'emmagatzema en grans vesícules de nucli dens per tal de poder ser alliberada per exocitosi. L'exocitosi consisteix en la fusió de la membrana vesicular, que emmagatzema el neurotransmissor, i la membrana plasmàtica

de la terminació nerviosa presinàptica. Observades mitjançant microscopi electrònic, les vesícules es mostren a les sinapsis organitzades en files prop de les zones actives de la membrana plasmàtica. Un requisit indispensable per a aquest procés és l'entrada del catió calci (Ca^{2+}) des de l'espai sinàptic a la terminació nerviosa a través de canals de calci dependents de voltatge. L'arribada del potencial d'acció provoca la despolarització de la membrana neuronal, la qual cosa produeix l'obertura dels canals de calci dependents de voltatge, la consegüent entrada de calci i l'elevació de la concentració citosòlica d'aquest catió en llocs immediatament adjacents a aquells on es produirà l'alliberament. Aquesta elevació temporal és el senyal que dispara la secreció per exocitosi dels neurotransmissors (Eguiagaray *et al.*, 2004).

1.3. Tipus de receptors dopaminèrgics

Les accions de la dopamina vénen donades per la seva acció sobre els cinc subtipus diferents de receptors sinàptics existents, els qual pertanyen a una gran superfamília de receptors acoblats a proteïnes G. Els receptors dopaminèrgics es divideixen en dos principals subclasses: els tipus D_1 i els tipus D_2 . Els membres d'aquesta família de receptors mostren una elevada conservació de la seqüència d'aminoàcids, en especial en els seus set dominis transmembrana. Aquesta homologia és especialment elevada entre receptors d'un mateix subtipus. És gràcies a aquesta homologia que els cinc subtipus de receptors van poder ésser clonats en un breu període de temps a partir de la clonació del primer subtipus de receptor, el D_2 (Jaber *et al.*, 1996; Missale *et al.*, 1998).

Els receptors D_1 i D_5 es classifiquen com receptors del tipus D_1 perquè comparteixen una elevada homologia en la seqüència d'aminoàcids, perquè estimulen l'adenilil-ciclasa i perquè mostren una farmacologia pròpia dels receptors D_1 . Els receptors D_2 , D_3 i D_4 es consideren del tipus D_2 , principalment per la seva homologia i farmacologia. Al contrari que els receptors del tipus D_1 , els D_2 inhibeixen la formació d'AMPc (Gingrich i Caron, 1993). Per tant, l'activació i l'inhibició de l'adenilil-ciclasa són característiques pròpies dels

receptors dopaminèrgics del tipus D_1 i D_2 , respectivament. Els membres d'una mateixa família de receptors mostren característiques comunes, com ara el seu patró de plegament general, que determina la seva interacció amb els lligands i amb les proteïnes de les vies de transducció de senyals. Tanmateix, les variacions en la seqüència permeten que la família sencera pugui respondre davant un mateix senyal i a la vegada dóna la possibilitat perquè existeixin diferències en l'afinitat pels agonistes i l'acoblament a les vies de transducció de senyal. Juntament amb aquesta diversitat molecular, l'expressió de cada subtipus de receptor pot estar regulada de manera diferenciada, la qual cosa permet augmentar el rang de respostes d'una cèl·lula enfront d'un mateix lligand mitjançant, per exemple, la restricció de l'expressió d'un determinat receptor a una regió específica del cervell o a un tipus específic de cèl·lula (Jaber *et al.*, 1996).

A banda de la transducció de senyal a través de l'adenilil-ciclasa, els receptors dopaminèrgics també actuen sobre els canals de calci i de potassi (K^+) i sobre les bombes de sodi (Na^+)/hidrogen (H^+) i de sodi/potassi, a més de tenir un efecte sobre l'alliberament de l'àcid araquidònic (Missale *et al.*, 1998).

Pel que fa a la localització anatòmica dels receptors dopaminèrgics en els sistema nerviós central, els tipus D_1 són principalment postsinàptics, mentre que els tipus D_2 són tant presinàptics com postsinàptics (Jaber *et al.*, 1996; Missale *et al.*, 1998).

El receptor D_1 és el més estès arreu del sistema nerviós central i el que mostra majors nivells d'expressió (Dearry *et al.*, 1990; Weiner *et al.*, 1991). S'ha trobat ARNm del receptor D_1 en àrees que es troben sota control dopaminèrgic com el nucli estriat, el nucli acumbens i el tubercle olfactori. També s'han trobat receptors D_1 al sistema límbic, a l'hipotàlem i al tàlem. En altres llocs, com el nucli entopeduncular i la part reticulada de la substància negra, on s'observen uns elevats nivells d'expressió del receptor D_1 , no s'ha detectat ARNm, la qual cosa suggereix que en aquestes àrees els receptors es troben principalment a les projeccions (Jaber *et al.*, 1996).

Els receptors D_5 mostren menor expressió que els D_1 i la seva distribució es veu restringida a l'hipocamp i a dos conjunts de nuclis: el nucli mamil·lar lateral i el nucli parafascicular del tàlem. L'ARNm del receptor D_5 s'ha trobat a l'escorça cerebral, al tàlem lateral, a la banda diagonal, a l'estriat i, en menor mesura, a la substància negra, al tàlem medial i a l'hipocamp (Missale *et al.*, 1998).

Els receptors D_2 es troben principalment al nucli estriat, al tubercle olfatori i al nucli acumbens. L'ARNm del receptor D_2 s'ha trobat a les escorces prefrontal, cingulada, temporal i entorrinal, a la regió septal, a l'amígdala i a les cèl·lules granulars de la formació hipocampal. També se'n troba a l'hipotàlem, a la part compacta de la substància negra i a l'àrea tegmental ventral, on s'expressa en neurones dopaminèrgiques. Per tant, el receptor D_2 es troba tant a nivell presinàptic com postsinàptic (Jaber *et al.*, 1996; Missale *et al.*, 1998).

Els receptors D_3 es troben específicament en àrees límbiques com el nucli acumbens, el tubercle olfatori i les illes de Calleja. Per contra, mostra nivells d'expressió baixos a l'estriat. L'ARNm del receptor D_3 s'ha trobat a la part compacta de la substància negra, a l'àrea tegmental ventral i al cerebel. Tot i que amb nivells baixos d'expressió, també s'han trobat receptors D_3 a l'hipocamp, a la regió septal i en diverses capes corticals i subregions del lòbul temporal medial (Jaber *et al.*, 1996; Missale *et al.*, 1998).

Pel que fa als receptors D_4 , la seva expressió és baixa als ganglis basals, mentre que s'observen nivells d'expressió més elevats a l'escorça frontal, la medul·la, l'amígdala, l'hipotàlem i el mesencèfal (Jaber *et al.*, 1996; Missale *et al.*, 1998).

1.4. Eliminació de la dopamina

La transmissió sinàptica per neurotransmissors pot ser terminada per tres mecanismes principals: la difusió, la degradació enzimàtica i el transport actiu per part de cèl·lules glials o neurones mitjançant els transportadors de

neurotransmissors específics. Pel que fa a la dopamina, els dos mecanismes més importants d'eliminació són la recaptació mitjançant el transportador de la dopamina (DAT) i la degradació a través de la catecol-o-metiltransferasa (COMT).

1.4.1. El transportador de la dopamina

Un factor clau que determina la intensitat i la durada de l'acció de la dopamina a les sinapsis és la recaptació del neurotransmissor cap a les terminals presinàptiques a través del transportador de la dopamina, l'estructura del qual es caracteritza per tenir dotze dominis transmembranals de 20 a 24 aminoàcids, un gran bucle extracel·lular hidrofílic amb entre dos i quatre llocs de glicosilació, i localització intracel·lular de les terminals amino i carboxil (**Figura 2**). A més, també posseeix diversos llocs de fosforilació per a diverses cinases. La fosforilació i desfosforilació del DAT en aquests llocs regula la recaptació de dopamina (Piccini, 2003).

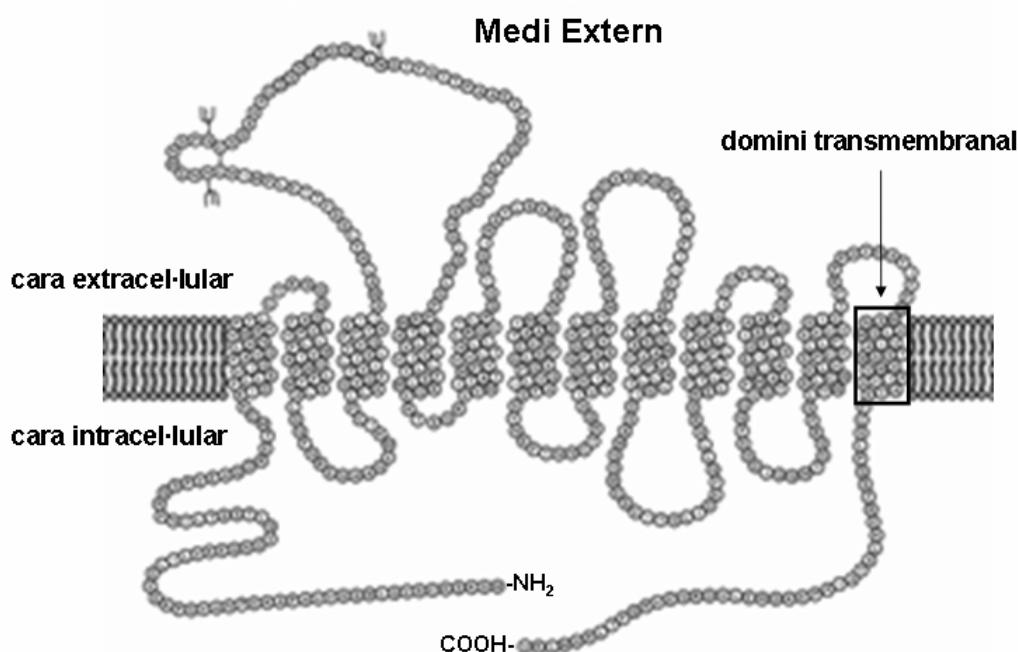


Figura 2. Representació de l'estructura del transportador de la dopamina.

La recaptació mitjançant el DAT és el principal mecanisme de regulació de les concentracions de dopamina i el mitjà més efectiu de finalitzar l'acció de la dopamina sobre els receptors (Torres, 2006). Els transportadors de neurotransmissors es poden classificar en dos principals famílies: els transportadors de membrana, responsables de la recaptació de neurotransmissors des de l'espai extracel·lular cap al citoplasma, i els transportadors vesiculars, que s'encarreguen del transport del neurotransmissor des del citoplasma cap a les vesícules secretores. Pel que fa als transportadors de membrana, n'hi ha de dues classes, totes dues dependents del gradient de sodi intracel·lular/extracel·lular però que difereixen en la seva dependència del clor (Cl⁻) o del potassi extracel·lular (Masson *et al.*, 1999; Piccini, 2003). El DAT és un transportador de membrana dependent de sodi/clor, igual que altres transportadors com el de la noradrenalina, la serotonina i el GABA. Com tots els transportadors de membrana, el DAT fa servir com a motor principal el gradient electroquímic que genera i manté l'ATPasa de sodi/potassi a través de la membrana plasmàtica (Masson *et al.*, 1999; Uhl, 2003). Tanmateix, també requereixen clor per transportar el substrat en contra de gradient de concentració des de l'espai extracel·lular a l'intracel·lular. El DAT cotransporta la dopamina juntament amb dos ions de sodi i un ió de clor (Masson *et al.*, 1999; Gainetdinov i Caron, 2003; Piccini, 2003; Uhl, 2003).

Mitjançant anticossos i ARNc, s'ha pogut determinar la localització anatòmica i cel·lular del DAT, el qual és present només en neurones que sintetitzen dopamina i es considera, per tant, un marcador específic de les neurones dopaminèrgiques en el sistema nerviós central (Masson *et al.*, 1999; Piccini, 2003).

Per tal de dur a terme la seva funció, el DAT s'ha de localitzar en zones especialitzades situades a prop dels llocs on es produeix l'alliberament presinàptic del neurotransmissor. Així, el DAT no és troba exactament allà on es produeix l'alliberament del neurotransmissor, sinó que està confinat a les àrees perisinàptiques (Nirenberg *et al.*, 1996). El DAT és present a les dendrites, al cos neuronal, als axons i a les terminacions nervioses de les

corresponents neurones dopaminèrgiques (Ciliax *et al.*, 1995; Freed *et al.*, 1995; Nirenberg *et al.*, 1996). El DAT es troba present, per tant, arreu de la superfície neuronal. A les terminals dopaminèrgiques del nucli estriat, que corresponen a les neurones situades a la part compacta de la substància negra, el DAT és abundant i es troba a les membranes varicoses i no varicoses, però no a les zones sinàptiques actives (Hersch *et al.*, 1997; Sesack *et al.*, 1998). A les terminacions nervioses de l'escorça frontal, que pertanyen a les neurones dopaminèrgiques de l'àrea tegmental ventral, els nivells d'expressió del DAT són baixos i la majoria es dona a nivell extrasinàptic (Sesack *et al.*, 1998). La diferència en els nivells de DAT en un i altre lloc explicaria les majors concentracions de dopamina observades a l'escorça prefrontal en comparació amb el nucli estriat.

El transportador de la noradrenalina també és capaç de recaptar la dopamina alliberada a l'espai sinàptic (Moron *et al.*, 2002). De fet, el transportador de noradrenalina té més afinitat per la dopamina que el propi DAT i més que pel seu propi substrat (Giros *et al.*, 1994; Stahl, 2003).

El gen del DAT, situat al cromosoma 5p15.3, presenta un polimorfisme consistent en un número variable de repeticions en tàndem (VNTR) de 40 parells de bases (bp) (Vandenbergh *et al.*, 1992). En la majoria de poblacions, els al·lels més comuns són els de 9 i 10 repeticions, malgrat que també se n'han trobat de 3, 5, 7, 8 i 11 (Sano *et al.*, 1993; Gelernter *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 1999). Aquest polimorfisme es troba a la regió 3' no codificant del gen i, per tant, no està associat a mutacions en la seqüència d'aminoàcids de la proteïna (Vandenbergh *et al.*, 2000). Aquest fet suggereix un possible desequilibri de lligament amb alguna mutació que influeixi en l'expressió del gen o en la funció fisiològica de la proteïna (Martinez *et al.*, 2001), donat que s'han observat diferències en la disponibilitat de la proteïna associades al VNTR. Heinz *et al.* (2000) van estudiar *in vivo* la disponibilitat del DAT al nucli estriat d'alcohòlics abstinentes i de subjectes control. Mitjançant la tomografia computeritzada per emissió de fotons simples (SPECT) amb el radiolligand [^{123}I]- β -CIT van determinar el potencial d'unió efectiu del DAT, el qual és una mesura de la disponibilitat de la proteïna. Els resultats d'aquest estudi van mostrar una

relació significativa entre el VNTR i la disponibilitat del DAT al putamen. Concretament, els subjectes heterozigots van mostrar una reducció del 22% del potencial d'unió efectiu comparat amb els subjectes homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions. L'efecte que varen observar en el caudat, tot i anar en el mateix sentit, no va assolir la significació estadística. En un estudi similar, Jacobsen *et al.* (2000) van estudiar la relació entre el genotip del DAT i la seva disponibilitat al nucli estriat en una mostra de subjectes sans i van trobar que el genotip del DAT exercia un efecte significatiu sobre la unió de DAT. Contràriament als resultats aportats per Heinz *et al.* (2000), en aquest estudi els subjectes homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions van mostrar una reducció del 13.4% en la unió del DAT en comparació al grup de subjectes portadors de l'al·lel de 9 repeticions. Martinez *et al.* (2001), fent servir la mateixa tècnica que els dos estudis anteriors, van avaluar l'expressió del DAT al nucli estriat de pacients amb esquizofrènia i subjectes control. En aquest estudi no es va trobar una associació significativa entre el polimorfisme 40 bp VNTR del DAT i la densitat del transportador. Els resultats van ser negatius tant quan es va estudiar la mostra sencera com quan es van analitzar els grups de pacients i controls separadament. Van Dyck *et al.* (2005) van trobar que eren els subjectes portadors de l'al·lel de 9 repeticions els que mostraven major disponibilitat de DAT a l'estriat, en comparació als homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions. L'augment de la disponibilitat del transportador va ser del 8.9%. En una mostra de nens amb TDAH i fent servir el mateix lligand que els treballs anteriors, Cheon *et al.* (2005) van trobar que els nens homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions mostraven major densitat de DAT als ganglis basals que els nens no homozigots per a aquest al·lel. Fent servir un altre tipus de lligand, el ⁹⁹Tc-TRODAT-1, Krause *et al.* (2006) no van trobar cap efecte en una mostra d'adults amb TDAH. També amb el ⁹⁹Tc-TRODAT-1, Lynch *et al.* (2003) van trobar que no hi havia cap efecte del VNTR del DAT sobre els valors d'unió del transportador al lligand, tant en pacients de Parkinson com en subjectes control.

Estudis *in vitro* també han avaluat l'efecte del 40 bp VNTR del DAT sobre l'expressió del gen (Fuke *et al.*, 2001; Michelhaugh *et al.*, 2001; Mill *et al.*, 2002; VanNess *et al.*, 2005). Fuke *et al.* (2001) van avaluar l'expressió de la

luciferasa en cèl·lules COS-7 i van observar que els nivells d'expressió eren majors quan el gen del DAT contenia l'al·lel de 10 repeticions que quan contenia els al·lells de 7 o 9 repeticions. En concret, les variants de 7 i 9 repeticions mostraven una reducció en l'expressió de luciferasa del 22.7 i del 29.2%, respectivament, en comparació amb la que mostrava la variant de 10 repeticions. En la mateixa línia, Mill *et al.* (2002) van mesurar els nivells d'ARNm al cerebel, al lòbul temporal i en limfòcits i van observar que nivells elevats d'expressió del gen del DAT estaven associats amb el nombre d'al·lells de 10 repeticions. Recentment, VanNess *et al.* (2005) van dur a terme un estudi per avaluar *in vitro* la densitat de DAT i l'afinitat pel lligand en sèries de cèl·lules transfectades amb el gen del DAT. Totes les cèl·lules contenien la regió codificant però amb diferències pel que fa a la presència i contingut de la regió 3' no codificant del gen. Les anàlisis d'unió van mostrar diferències en la concentració total de transportador atribuïbles al genotip del DAT. Les cèl·lules transfectades amb l'al·lel de 10 repeticions mostraven una concentració de transportadors un 54% més elevada que les cèl·lules transfectades amb la variant de 9 repeticions.

1.4.2. La catecol-o-metiltransferasa

La catecol-o-metiltransferasa és un enzim que pot catalitzar la metilació de petites molècules com fàrmacs, hormones i neurotransmissors o de macromolècules com les proteïnes, l'ARN o l'ADN (**Figura 3**). És tracta d'un enzim dependent de l'S-adenosil-L-metionina i de l'ió de magnesi (Mg^{2+}) per a la seva activitat i amb un requeriment absolut de substrats acceptors de metils que posseeixin una estructura catecol (Axelrod i Tomchick, 1958; Weinshilboum, 2006). L'enzim catalitza la transferència d'un grup metil des de l'S-adenosil-L-metionina al grup hidroxil de les catecolamines. Malgrat que inicialment va ser descrit com un enzim citosòlic, actualment hi ha evidència de l'existència d'una variant membranal de la COMT (Guldborg i Marsden, 1975). Totes dues formes de l'enzim es transcriuen a partir del mateix gen, situat al cromosoma 22q11, tot i que el lloc d'inici de la transcripció és diferent per a cadascuna de les dues formes (Tenhunen *et al.*, 1994). La forma citosòlica de

la COMT s'expressa de manera abundant al ronyó i al fetge, mentre que els màxims nivells d'expressió de la forma membranar es troben al cervell (Tenhunen *et al.*, 1994; Lundstrom *et al.*, 1995; Matsumoto *et al.*, 2003).

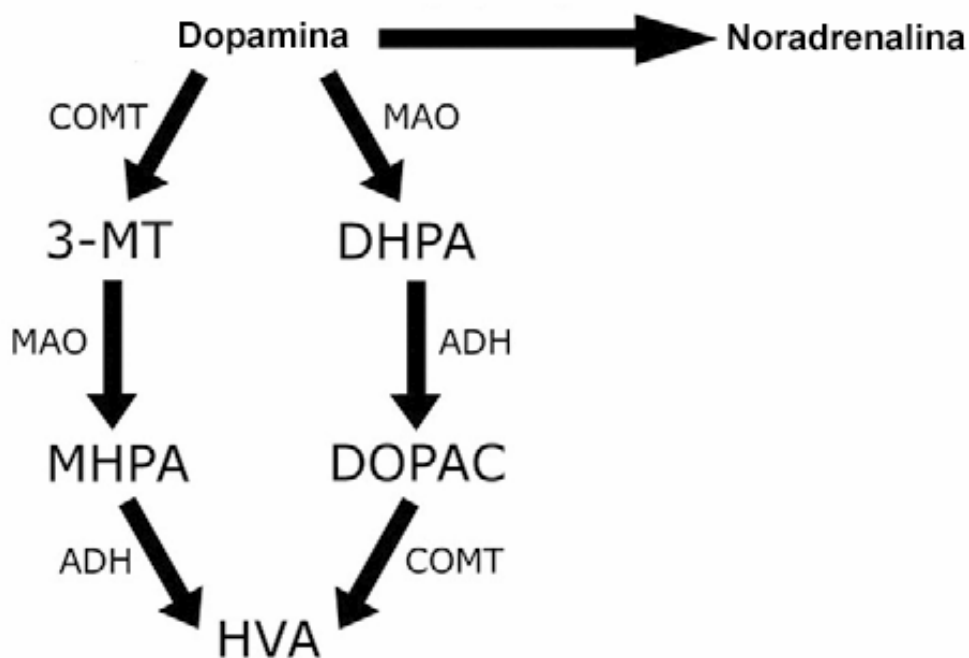


Figura 3. Metabolisme de la dopamina. La dopamina és degradada fins a obtenir àcid homovalínic (HVA) a través dels enzims catecol-o-metiltransferasa (COMT), monoamino-oxidasa (MAO) i aldehydeshidrogenasa (ADH). Els productes intermedis són la 3-metoxitiramina (3-MT), el 3,4-dihidroxiifenilacetaldehid (DHPA), el 3-metoxi-4-hidroxiifenilacetaldehid (MHPA), l'àcid 3,4-dihidroxiifenilacètic (DOPAC), el dihidroxiifenilglicol (DHPG), l'àcid 3,4-dihidroxiimandèlic (DHMA) i el 3-metoxi-4-hidroxiifenilglicol (MHPG). Adaptat de Tunbridge *et al.* (2006).

El gen de la COMT es troba a la banda q11.2 del cromosoma 22. El gen consisteix en sis exons, dels quals els dos primers són no codificants, que

codifiquen per dos transcrits d'1.3 i 1.5 kilobases en humans, a partir de dos promotors. El més llarg dels dos transcrits codifica diferents formes de l'enzim: la membranal i la citosòlica (Tunbridge *et al.*, 2006). La COMT mostra un polimorfisme funcional a l'exó 4 causat per la transició d'una guanina a una adenina que suposa un canvi de l'aminoàcid valina (Val) per l'aminoàcid metionina (Met) al codó 108/158, depenent de si la forma de l'enzim codificada és la citosòlica (codó 108) o la membranal (codó 158) (Lachman *et al.*, 1996). L'enzim que conté l'aminoàcid metionina és termolàbil a 37 °C, mentre que l'enzim que conté l'aminoàcid valina mostra major estabilitat a temperatures entre els 37 i els 56 °C (Scanlon *et al.*, 1979; Spielman i Weinshilboum, 1981; Weinshilboum i Dunnette, 1981; Lotta *et al.*, 1995; Rutherford *et al.*, 2006). Tot i que no es poden excloure factors genètics més complexos per explicar els efectes funcionals de la COMT, sembla que l'al·lel Val és un element que determina majors nivells d'expressió i d'activitat de la COMT, la qual cosa porta presumiblement a nivells inferiors de dopamina a les sinapsis (Chen *et al.*, 2004).

Els nivells d'activitat de la COMT s'hereten de forma autosòmica codominant (Weinshilboum *et al.*, 1999), amb aproximadament les mateixes freqüències per a cadascun dels al·lells en subjectes caucàsians (Floderus i Wetterberg, 1981; Spielman i Weinshilboum, 1981; Siervogel *et al.*, 1984).

En l'ésser humà, la majoria de teixits expressen els dos transcrits d'ARNm de la COMT, tot i que al cervell només la forma membranosa és fàcilment detectable (Tenhunen *et al.*, 1994; Hong *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2004). Com a resultat, i contrastant amb el que passa a la majoria de teixits perifèrics, la forma membranosa és l'enzim dominant al cervell, on només es troben baixos nivells de l'enzim en la forma soluble (Tunbridge *et al.*, 2006). Tot i que la COMT s'expressa arreu del cervell (Hong *et al.*, 1998), sembla ser que és a l'escorça prefrontal on el seu impacte sobre la regulació de la disponibilitat dopaminèrgica és més destacat (Gogos *et al.*, 1998; Huotari *et al.*, 2002; Tunbridge *et al.*, 2004), donada la menor expressió del DAT a les sinapsis de les regions corticals (Sesack *et al.*, 1998; Lewis *et al.*, 2001; Huotari *et al.*, 2002). Per contra, l'expressió de la COMT és baixa al nucli estriat i encara

inferior a l'àrea tegmental ventral i a la substància negra (Tunbridge *et al.*, 2006).

Malgrat que històricament el paper de la COMT en la degradació de les catecolamines s'havia considerat menor en comparació a la monoaminoxidasa, hi ha evidències que suggereixen que la COMT té un paper important en la degradació de la dopamina, especialment a l'escorça prefrontal. En primer lloc, la 3-metoxitiramina, que es forma a partir de la o-metilació de la dopamina per la COMT, és el principal metabòlit de la dopamina alliberada a l'escorça prefrontal de les rates, la qual cosa suggereix que la o-metilació és una via important en aquesta regió (Karoum *et al.*, 1994). A més, en ratolins *knockout* per la COMT, s'ha vist que es produeixen augments de la dopamina frontal d'entre dues i tres vegades respecte els nivells basals, en absència de canvis en altres regions cerebrals i en els nivells de noradrenalina (Gogos *et al.*, 1998). En la mateixa línia de resultats, Tunbridge *et al.* (2004) van demostrar que l'administració de tolcapone, un inhibidor de la COMT, feia augmentar la dopamina extracel·lular però no la noradrenalina a l'escorça prefrontal de rates quan s'induïa un flux catecolaminèrgic. Aquestes dades semblen indicar que la COMT té un paper important en la regulació de la dopamina, però no de la noradrenalina, a l'escorça prefrontal.

La COMT també té un efecte sobre les neurones dopaminèrgiques del mesencèfal, probablement mitjançant un efecte indirecte exercit a través de feedback prefrontal. S'ha observat que l'activitat dopaminèrgica de l'escorça prefrontal regula l'activitat dopaminèrgica subcortical. Existeix la hipòtesi que l'activitat de l'escorça prefrontal inhibeix les projeccions estriatals dopaminèrgiques a través de neurones GABAèrgiques inhibidores al mesencèfal o al nucli estriat (Carr i Sesack, 2000). L'activitat dopaminèrgica a l'escorça prefrontal i al nucli estriat estan, per tant, inversament relacionades. Donada la seva importància a l'escorça prefrontal, la COMT pot tenir un efecte sobre el funcionament d'aquest circuit. L'expressió de la tirosina-hidroxilasa, l'enzim limitador de la síntesi de la dopamina, en els nuclis de projecció dopaminèrgica del mesencèfal està relacionada amb el genotip Val¹⁵⁸Met de la COMT en cervells humans *post mortem*. Els subjectes homozigots per a l'al·lel

Val, que serien els que tindrien els nivells més alts d'activitat de la COMT i, per tant, els nivells més baixos de dopamina prefrontal, mostren majors nivells d'expressió d'ARNm de la tirosina-hidroxilasa al mesencèfal que els subjectes heterozigots (Akil *et al.*, 2003). Donada l'escassa presència de COMT a les àrees mesencefàliques, sembla ser que l'alteració dels nivells d'expressió de la tirosina-hidroxilasa en aquestes regions és conseqüència de la variació en l'activitat de la COMT prefrontal més que no pas un efecte local. Aquestes dades concorden amb les prediccions basades en els circuits anatòmics i amb l'evidència que les projeccions prefrontals inhibeixen l'activitat de les neurones dopaminèrgiques mesencefàliques. Presumiblement, els subjectes homozigots per a l'al·lel Val exerceixen una inhibició regulada corticofugalment menys organitzada o coherent sobre les cèl·lules dopaminèrgiques (Tunbridge *et al.*, 2006).

Sobre l'activitat de la COMT en altres regions, la més extensament estudiada ha estat el nucli estriat. Sembla ser que en aquest nucli el paper de la COMT en la degradació de la dopamina és força més discret, com evidencia la manca d'efecte de la inhibició de la COMT sobre els nivells de dopamina en aquesta estructura (Maj *et al.*, 1990; Napolitano *et al.*, 2003), la relativa manca de formació de 3-metoxitiramina en aquesta regió (Karoum *et al.*, 1994) i l'absència de canvis en els nivells de catecolamines estriatals en ratolins *knockout* per la COMT (Gogos *et al.*, 1998).

1.5. Localització i vies de les neurones dopaminèrgiques

Les neurones dopaminèrgiques són un grup heterogeni de cèl·lules a nivell anatòmic i funcional situades al diencèfal, mesencèfal i bulb olfactori. El nucli més important de cèl·lules dopaminèrgiques es troba a la part ventral del mesencèfal i conté aproximadament el 90% del total de neurones dopaminèrgiques. El sistema dopaminèrgic mesencefàlic s'ha subdividit en tres principals subsistemes: el nigroestriatal, el mesolímbic i el mesocortical (Chinta i Andersen, 2005) (**Figura 4**).

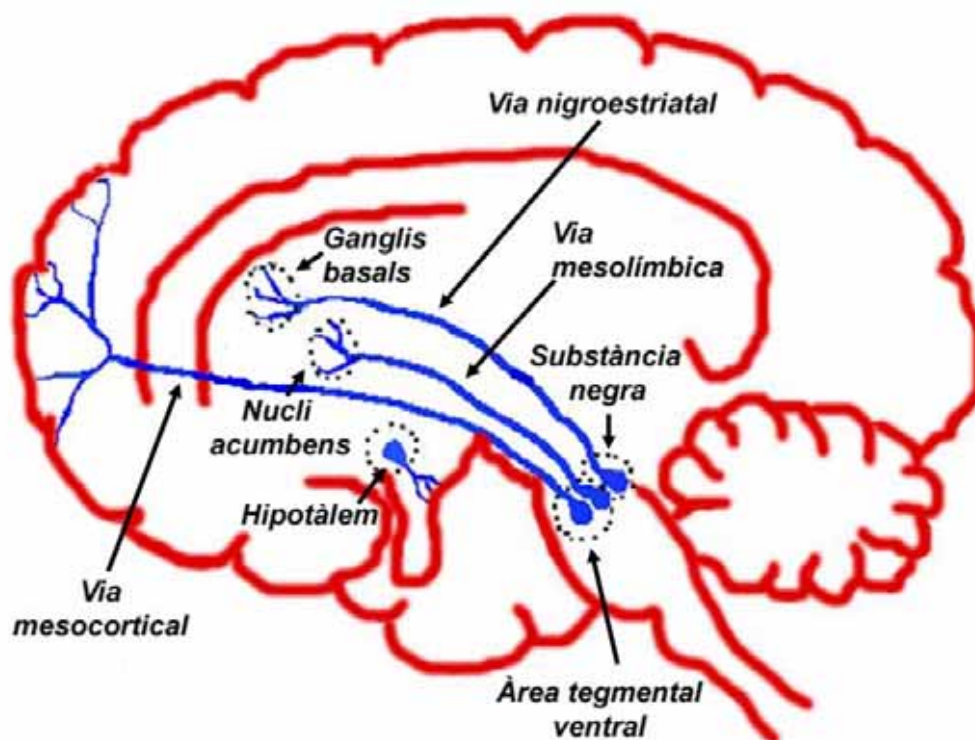


Figura 4. Representació de les vies dopaminèrgiques en el cervell humà. Adaptat de Chinta et al. (2005).

El sistema nigroestriatal és probablement el més conegut. S'origina a la part compacta de la substància negra i projecta les seves fibres cap a l'estriat dorsal, format pels nuclis caudat i putamen. La via nigroestriatal té un paper important en el control del moviment voluntari. En una posició més medial respecte al sistema nigroestriatal es troben els sistemes mesocortical i mesolímbic, tots dos originats a l'àrea tegmental ventral. Les cèl·lules d'aquesta regió mesencefàlica projecten de manera més prominent al nucli acumbens i al tubercle olfatori, tot i que també ho fan cap al sept, l'amígdala i l'hipocamp. Aquest conjunt de projeccions reben el nom de sistema mesolímbic. Altres cèl·lules de l'àrea tegmental ventral envien els seus axons a l'escorça

prefrontal, cingulada i perirrinal i donen lloc al sistema mesocortical. Donat l'elevat grau de solapament en les projeccions corresponents als sistemes mesolímbic i mesocortical, els dos sistemes sovint s'identifiquen com el sistema mesocorticolímbic (Björklund i Kökfelt, 1984; Peters i Jones, 1987; Chinta i Andersen, 2005).

1.6. Dopamina i cognició: memòria de treball, flexibilitat i atenció

Les entrades dopaminèrgiques mesocorticals a l'escorça prefrontal tenen un paper crític en els processos cognitius normals, així com en les patologies neuropsiquiàtriques. Aquesta entrada dopaminèrgica regula aspectes com la memòria de treball, la planificació i l'atenció (Seamans i Yang, 2004).

1.6.1. La memòria de treball

El concepte de memòria de treball es refereix al sistema cerebral que permet l'emmagatzematge temporal i la manipulació de la informació necessària per dur a terme tasques cognitives complexes com ara la comprensió del llenguatge, l'aprenentatge i el raonament (Baddeley, 1992).

Les projeccions dopaminèrgiques a l'escorça prefrontal exerceixen un efecte neuromodulador molt important sobre les funcions cognitives suportades pel lòbul frontal. Brozoski *et al.* (1979) van trobar que la reducció dels nivells de dopamina a l'escorça prefrontal de primats perjudicava l'execució en tasques de resposta demorada amb una magnitud similar als efectes produïts per l'extirpació completa del lòbul frontal (Floresco i Magyar, 2006; Williams i Castner, 2006). La integritat de la memòria de treball no depèn tan sols de la integritat del funcionament dopaminèrgic a l'escorça prefrontal, sinó també d'estructures subcorticals, com s'observa en la malaltia de Parkinson i en els models animals de la mateixa. En els models amb primats no humans s'observa que la neurotoxina dopaminèrgica 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina indueix una síndrome que no només reproduïx els

síntomes motors de la malaltia de Parkinson, sinó que també genera un ampli ventall de símptomes a nivell cognitiu. L'administració d'aquesta toxina a dosis baixes produeix en primats dèficits persistents en la memòria de treball. A més, en els primers estadis de la malaltia de Parkinson ja s'observen dèficits en la memòria de treball (Taylor *et al.*, 1990; Cooper *et al.*, 1991) i els efectes de la retirada de l'L-DOPA dóna suport a la relació entre dèficit dopaminèrgic i alteracions en la memòria de treball en aquesta malaltia (Lange *et al.*, 1992; Williams i Castner, 2006).

La relació entre dopamina i cognició també es fa evident amb la davallada del funcionament cognitiu com a resultat de l'envelliment. Força paràmetres relacionats amb la transmissió dopaminèrgica es deterioren amb l'edat (Goldman-Rakic i Brown, 1981; Rinne *et al.*, 1990; Ma *et al.*, 1999; Hemby *et al.*, 2003) i l'edat s'associa a l'empitjorament de la memòria de treball i les funcions executives (Volkow *et al.*, 1998; Backman i Farde, 2001; Moore *et al.*, 2003). L'administració aguda d'agonistes del receptor D₁ produeix millores en la memòria de treball (Arnsten *et al.*, 1994; Cai i Arnsten, 1997). En altres situacions que també suposen reduccions de l'activitat dopaminèrgica, com l'estrès crònic o el tractament crònic amb neuroleptics, l'estimulació dels receptors D₁ produeix una millora de la memòria de treball (Castner *et al.*, 2000; Mizoguchi *et al.*, 2000; Williams i Castner, 2006). Per contra, l'elevació de la dopamina més enllà del rang normal també va associada a un empitjorament de la memòria de treball. Un exemple és l'estrès agut, en el qual es produeix un augment de la transmissió dopaminèrgica prefrontal que va lligat a una alteració de l'execució en tasques de memòria de treball (Arnsten i Goldman-Rakic, 1998; Morrow *et al.*, 2000; Hutson *et al.*, 2004). De manera similar, s'ha observat que els potenciadors de l'activitat dopaminèrgica com l'amfetamina o els agonistes dels receptors D₁ també poden alterar la memòria de treball (Bauer i Fuster, 1978; Kesner *et al.*, 1981; Arnsten *et al.*, 1994; Cai i Arnsten, 1997).

La dopamina exerceix els efectes sobre l'activitat neural de l'escorça prefrontal a través dels diferents tipus de receptors. Tant els receptors tipus D₁ com els receptors tipus D₂ són presents a l'escorça prefrontal, tot i que la

localització subcel·lular d'aquests dos tipus de receptors difereix. A les neurones piramidals de l'escorça prefrontal l'expressió dels receptors tipus D₁ és força més elevada que la dels tipus D₂ (Lidow *et al.*, 1991; Gaspar *et al.*, 1995), mentre que els dos receptors es troben a les interneurons GABAèrgiques i poden també ser presents a les terminals excitatòries presinàptiques glutamatèrgiques (Floresco i Magyar, 2006).

L'efecte de la dopamina sobre la memòria de treball està mediatitzat principalment pel receptor D₁. Sawaguchi i Goldman-Rakic (1991, 1994) van demostrar que l'administració local dels antagonistes dels receptors D₁ SCH 23390 o SCH 39166 a l'escorça frontal dorsolateral provocava una davallada en l'execució en una tasca de resposta oculomotora diferida. Tanmateix, el bloqueig dels receptors dopaminèrgics tipus D₂ mitjançant sulpiride o raclopride no feia disminuir el nivell d'execució en aquesta tasca (Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1994; Floresco i Magyar, 2006). Estudis posteriors van revelar que la principal funció dels receptors D₁ és potenciar i estabilitzar l'activitat relacionada amb la tasca de les neurones de l'escorça prefrontal. En aquest sentit, l'administració de dosis elevades d'antagonistes dels receptors D₁ atenua l'activitat sostinguda que mostren les neurones de l'escorça prefrontal durant l'espai de demora en tasques de resposta demorada, mentre que l'administració de dopamina potencia aquesta activitat (Sawaguchi *et al.*, 1988; Williams i Goldman-Rakic, 1995).

El paper dels receptors dopaminèrgics D₂ sobre la memòria de treball també ha estat estudiat. L'aplicació d'agonistes o antagonistes augmenta o atenua l'activitat neuronal a l'escorça prefrontal associada al component de resposta en una tasca oculomotora de resposta demorada (Wang *et al.*, 2004). Tanmateix, l'efecte dels receptors D₂ sobre la memòria de treball roman incert, donat que el bloqueig d'aquest tipus de receptor a l'escorça prefrontal no empitjora l'execució (Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1994). L'administració sistèmica d'antagonistes del receptor D₂ sí que pot empitjorar el rendiment en tasques de memòria de treball (Mehta *et al.*, 2004; Von Huben *et al.*, 2006). Un possible mecanisme explicatiu seria que els efectes dels receptors D₂ vinguessin donats pel bloqueig d'aquests receptors en altres regions, com ara

el nucli estriat, donat que la disminució de dopamina en el nucli caudat també empitjora la resposta demorada espacial. A més, l'administració selectiva d'antagonistes D_2 bloquejaria els autorreceptors dopaminèrgics i augmentaria els nivells de dopamina extracel·lular a l'escorça prefrontal, la qual cosa conduiria a una estimulació excessiva dels receptors D_1 que provocaria un detriment de la memòria de treball (Floresco i Magyar, 2006). L'execució en

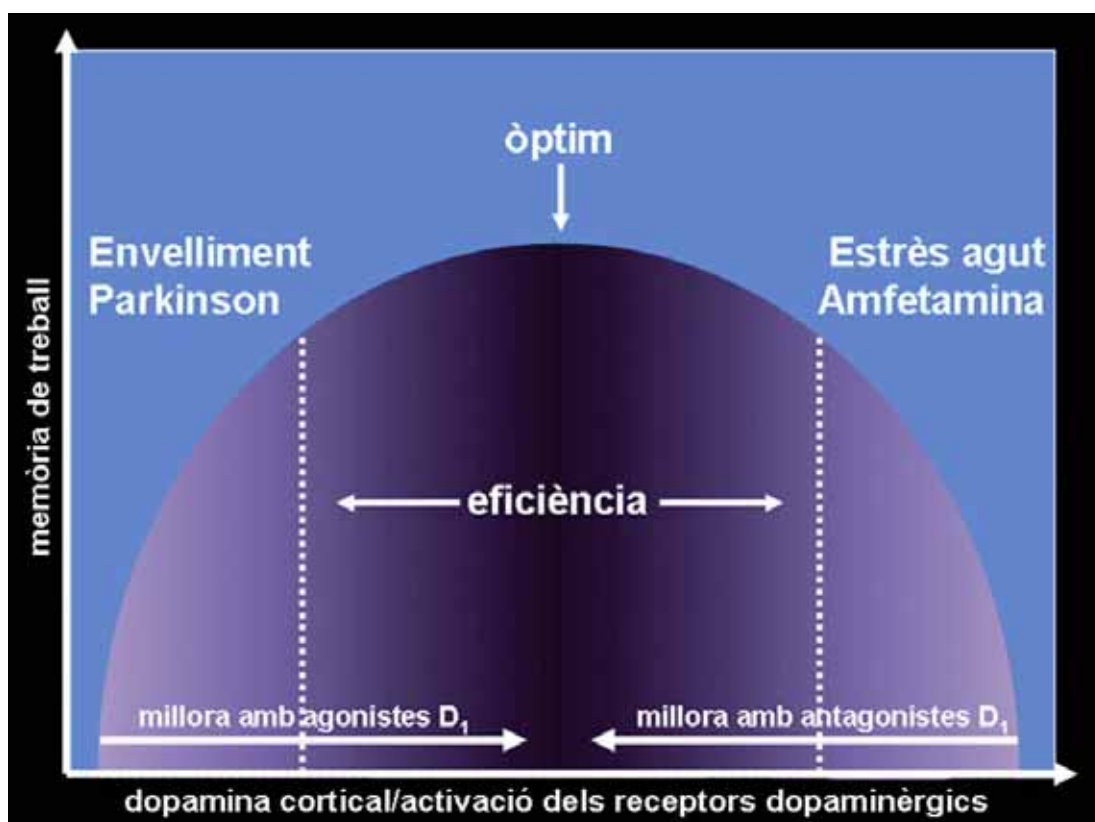


Figura 5. Model de la U invertida per al funcionament dopaminèrgic prefrontal. Aquest model mostra que tant els nivells més elevats com els més baixos de dopamina empitjoren el rendiment de funcions prefrontals, com la memòria de treball, mentre que la funció és òptima a uns nivells de dopamina intermedis. La funció prefrontal es veuria alterada tant en estats hipodopaminèrgics, com en l'envel·liment o en la malaltia de Parkinson, com en estats hiperdopaminèrgics, com en l'estrès agut o per l'administració d'amfetamina. En el primer cas, l'administració d'agonistes dopaminèrgics acostaria la funció prefrontal cap als nivells òptims,

mentre que en el segon cas s'aconseguiria aquest efecte mitjançant l'administració d'antagonistes dopaminèrgics. Adaptat de Williams i Castner (2006) i de Tunbridge et al. (2006).

tasques de resposta demorada també es veu empitjorada per l'estimulació excessiva dels receptors D_1 de l'escorça prefrontal. L'administració sistèmica d'amfetamina, un agonista indirecte de la dopamina, empitjora la resposta demorada tant en primats com en rates (Bauer i Fuster, 1978; Kesner *et al.*, 1981). Aquests efectes són produïts per una estimulació excessiva dels receptors D_1 , donat que es neutralitzen amb la coadministració d'antagonistes dels receptors D_1 (Murphy *et al.*, 1996; Zahrt *et al.*, 1997). Aquests resultats suggereixen que existeix un rang òptim d'activació dels receptors D_1 a l'escorça prefrontal que permet un funcionament eficient de la memòria de treball i que desviacions respecte aquest rang suposen una alteració de l'activitat neuronal de l'escorça prefrontal amb la consegüent afectació de la memòria de treball. Sembla ser, per tant, que la modulació de la memòria de treball per part del receptor dopaminèrgic D_1 a l'escorça prefrontal s'ajustaria a una funció en forma de U invertida (Arnsten, 1997; Zahrt *et al.*, 1997; Williams i Castner, 2006) on massa poca i excessiva activitat poden alterar els patrons d'activitat de les xarxes neuronals de les quals en depèn una memòria de treball eficient (Floresco i Magyar, 2006; Williams i Castner, 2006) (**Figura 5**).

Una tasca típica de memòria de treball és l'*N-back*, que implica l'emmagatzematge i l'actualització de la informació en la memòria de treball i que requereix de l'escorça prefrontal dorsolateral. El grau de requeriment de l'escorça prefrontal dorsolateral en relació a la càrrega de memòria de treball que implica la tasca mostra una relació en forma de U invertida (Callicott *et al.*, 1999). L'augment de la càrrega de memòria de treball fins a prop dels nivells màxims de capacitat ha permès observar que els subjectes que exhibeixen un bon nivell d'execució en la tasca mostren, mitjançant ressonància magnètica funcional (RMf), una utilització eficient de l'activitat prefrontal, entesa com un menor nivell d'activació cerebral per a un determinat nivell d'execució en la tasca. A més, aquests subjectes mostren poc canvi en els nivells d'activació

prefrontal quan se'ls administra una certa dosi d'amfetamina que pot empitjorar la seva execució, mentre que en aquells subjectes que tenen un nivell d'execució basal baix, amb l'administració d'amfetamina mostren un canvi important en la senyal d'RMf que va associat a una millora en el rendiment en la tasca (Mattay *et al.*, 2000). De manera similar, l'administració de bromocriptina, un agonista dels receptors D₂, fa millorar l'execució d'aquells subjectes amb una capacitat de memòria de treball baixa a nivell basal i empitjora la d'aquells amb una capacitat elevada (Kimberg *et al.*, 1997). A més, s'ha observat que el metilfenidat millora la memòria de treball espacial particularment en subjectes que no tenen un bon nivell d'execució basal i que aquesta potenciació de la memòria de treball va lligada a una reducció en el rec sanguini cerebral regional a l'escorça prefrontal dorsolateral (Mehta *et al.*, 2000). Aquests resultats suggereixen que l'augment de la càrrega de memòria de treball fa augmentar els nivells d'activitat dopaminèrgica, però que quan aquesta càrrega arriba als nivells de capacitat màxims aquesta transmissió dopaminèrgica no només no facilita el processament de la informació sinó que l'empitjora (Williams i Castner, 2006).

Donada la importància de la COMT en la determinació dels nivells de dopamina a l'escorça prefrontal, diversos estudis han avaluat l'efecte del genotip Val^{108/158} Met de la COMT sobre les funcions pròpies d'aquesta regió. Goldberg *et al.* (2003) van estudiar l'efecte del genotip de la COMT sobre la memòria de treball i els processos atencionals en una àmplia mostra de pacients esquizofrènics, els seus germans sans i controls. Els resultats van mostrar un efecte del genotip de la COMT pel qual els subjectes homozigots per a l'al·lel Val mostraven els nivells més baixos d'execució i els temps de reacció més elevats en l'*N-back*, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met mostraven els millors nivells d'execució i els temps de reacció més baixos. El nivell d'execució dels subjectes heterozigots es situava entre el dels dos grups d'homozigots. Els autors també van estudiar l'efecte del genotip de la COMT sobre altres tasques amb poca demanda del sistema de memòria de treball com el *Continuous Performance Test* (CPT) o el quocient d'intel·ligència. En cap de les dues mesures es va observar efecte del genotip de la COMT.

Estudis duts a terme en subjectes sans han descrit un efecte del genotip de la COMT sobre la memòria de treball. Bruder *et al.* (2005) van administrar diverses proves de memòria de treball i van observar que només la subprova *Lletres i Números* del WAIS va donar diferències significatives. Els subjectes homozigots per a l'al·lel Met van obtenir un rendiment significativament millor que els heterozigots i que els homozigots per a l'al·lel Val. Segons els autors, el genotip de la COMT no estaria associat amb el rendiment en tests que mesuren emmagatzematge simple, manteniment o actualització de la informació en la memòria de treball. El fet que trobessin diferències en la subprova *Lletres i Números* juntament amb el *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST) suggereix que el més probable és que aquest genotip estigui relacionat amb aspectes de processament de major ordre, com ara la manipulació mental (Bruder *et al.*, 2005). De Frias *et al.* (2005) van avaluar l'efecte de la COMT sobre les funcions executives fent servir tres indicadors d'aquestes funcions: un test de fluència verbal, una tasca de memòria de treball i la torre de Hanoi. Els autors van observar que els subjectes portadors de l'al·lel Val mostraven un rendiment inferior en les funcions executives que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met. A més, els participants a l'estudi van tornar a ser avaluats al cap de 5 anys. La comparació entre els resultats de les dues avaluacions va mostrar que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val van patir una davallada en el rendiment en aquest període de temps, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met i, especialment, els heterozigots van mantenir el seu nivell d'execució. En un estudi recent, Diaz-Asper *et al.* (2007) van trobar que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val mostraven un nivell d'execució en l'*1-back* inferior al dels subjectes heterozigots i homozigots per a l'al·lel Met, els quals no diferien entre si. Aquest patró el varen observar al marge de si els subjectes eren pacients esquizofrènics, els seus germans sans o subjectes control normals. En el *0-back* i el *2-back* aquest efecte no va arribar a la significació estadística.

Per altra banda, Ho *et al.* (2005) van estudiar l'efecte del genotip de la COMT sobre les funcions frontals en pacients esquizofrènics i subjectes control. Als subjectes se'ls va administrar el WCST, els *Digits Inversos* del WAIS-R i el *Trail Making Test*. Malgrat que els pacients esquizofrènics van

mostrar el pitjor rendiment en totes les tasques, no es va trobar cap relació entre el genotip de la COMT i el rendiment en cap de les proves administrades ni en els pacients ni en els controls. Una possible explicació que aporten els autors per aquesta discrepància en els resultats rau en la diferència d'edat de les mostres. Diversos estudis *post mortem* i *in vivo* han demostrat la relació entre l'empitjorament de la funció dopaminèrgica al lòbul frontal i l'edat (Rinne, 1987; de Keyser *et al.*, 1990; Suhara *et al.*, 1991; Kaasinen *et al.*, 2000; Volkow *et al.*, 2000). Aquesta davallada en la funció dopaminèrgica sembla tenir un inici primerenc i s'ha estimat que es dona a raó d'entre un 11 i un 13% per cada dècada de vida. Per tant, els subjectes de més avançada edat podria ser que tinguessin una reserva dopaminèrgica funcional considerablement inferior a la dels subjectes més joves. Qualsevol reducció en la funció dopaminèrgica entre els individus més vells, com pot ser la donada pel major catabolisme associat a l'al·lel Val, podria tenir uns efectes adversos més marcats sobre les funcions frontals que entre els subjectes més joves (Ho *et al.*, 2005). Una altra raó que segons els autors pot explicar la manca d'associació entre el genotip de la COMT i el rendiment en tasques de memòria de treball pot estar relacionada amb el paper secundari de la COMT en la determinació dels nivells de dopamina sinàptics. Tot i que la literatura en humans és limitada pel que fa a la influència dels transportadors de catecolamines, la monoamino-oxidasa i la COMT a l'hora de determinar els nivells de dopamina sinàptics a l'escorça prefrontal, hi ha estudis amb animals que indiquen que la COMT té un paper discret en l'eliminació de la dopamina sinàptica, fins i tot en condicions de baixa activitat del transportador de la dopamina (Wayment *et al.*, 2001; Huotari *et al.*, 2002; Moron *et al.*, 2002).

L'estudi de Ho *et al.* (2005) tampoc no va mostrar cap diferència entre els diferents genotips de la COMT pel que fa a l'activació cerebral durant la realització de l'*N-back*, mitjançant la tomografia per emissió de positrons (PET). Sí que van trobar aquest efecte Egan *et al.* (2001) en pacients esquizofrènics i en germans sans d'aquests pacients. Mitjançant RMf, van observar que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val de la COMT van ser els que van mostrar majors nivells d'activació de l'escorça prefrontal durant la realització de l'*N-back*, seguits dels subjectes heterozigots i, finalment, dels subjectes

homozigots per a l'al·lel Met. Donat que no es van observar diferències de rendiment en l'*N-back* entre els diferents grups, els resultats s'interpreten com diferències en l'eficiència a nivell fisiològic de l'escorça prefrontal, entesa com un menor grau d'activació per aconseguir un mateix nivell de rendiment cognitiu. Aquesta reducció en l'eficiència de l'escorça prefrontal vindria donada per uns nivells més baixos de dopamina sinàptica que serien resultat d'una major activitat de la COMT. Aquesta menor disponibilitat dopaminèrgica reduiria la relació entre senyal i soroll en els circuits de la memòria de treball i d'aquesta manera es veuria reduïda la seva eficiència (Egan *et al.*, 2001).

Recentment, Bertollino *et al.* (2006) han dut a terme un estudi sobre la influència de les variacions genètiques de la COMT i el DAT sobre la memòria de treball en subjectes sans amb una metodologia anàloga a l'estudi d'Egan *et al.* (2001). Els resultats obtinguts indiquen que tant el genotip de la COMT com el del DAT prediuen de forma independent el senyal d'RMf en la xarxa cortical de la memòria de treball. Consistent amb l'estudi d'Egan *et al.* (2001), els subjectes homozigots per a l'al·lel Met de la COMT mostraven una resposta cerebral més focalitzada, és a dir, menys activació per a un nivell d'execució similar. Pel que fa al DAT, els subjectes homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions són els que varen mostrar la resposta més focalitzada. Aquest estudi també va trobar que els dos gens tenen un efecte additiu, donat que els subjectes que són homozigots tant per a l'al·lel Met de la COMT com per a l'al·lel de 10 repeticions del DAT mostren la resposta més focalitzada, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val i per al de 9 repeticions són els que mostren el menor grau de focalització de la resposta cerebral. Per part de la COMT aquests resultats s'explicarien per la major activitat enzimàtica associada a l'al·lel Val, que presumiblement condueix a un nivells menors de dopamina sinàptica a l'escorça prefrontal, cosa que faria augmentar la relació entre senyal i soroll de les neurones piramidals glutamatèrgiques a través de l'estimulació dels receptors D₁. Pel que fa al DAT, l'efecte sobre l'activació frontal l'exerciria per dues vies diferents: directament a l'escorça prefrontal o indirectament a través del nucli estriat. Segons els autors, l'al·lel de 10 repeticions del DAT, associat a una major expressió del gen, portaria presumiblement a una relativa disminució dels nivells de dopamina sinàptics, la

qual cosa aniria associada a una reducció de l'activació dels receptors D₂ i a un augment de l'alliberament de GABA, de manera que es veuria incrementada la relació entre senyal i soroll de les neurones piramidals. Tanmateix, l'expressió del DAT a l'escorça és escassa, mentre que és molt elevada al nucli estriat, el qual és un component clau del sistema cortico-estriato-talamo-cortical. Segons els autors, la principal funció d'aquesta circuiteria estriatal seria la d'augmentar la relació entre senyal i soroll a l'escorça. Donat que l'efecte net de la dopamina estriatal és el d'augmentar l'activitat de les vies talamocorticals, la major expressió del DAT a l'estriat suposadament portaria a una major inactivació de la dopamina i a una resposta més focalitzada de les vies talamoprefrontals (Bertolino *et al.*, 2006).

1.6.2. La flexibilitat

Una altra funció executiva pròpia de l'escorça frontal és la flexibilitat en el comportament i la capacitat d'alterar-lo en resposta a condicions ambientals canviants. Lesions a determinades regions de l'escorça prefrontal en humans, primats i rates produeixen dèficits en tasques que requereixen desestimar una estratègia de comportament prèviament beneficiosa per endegar-ne una de nova. Un exemple en són els pacients amb lesions a l'escorça prefrontal dorsolateral. Aquests pacients mostren dificultats en l'execució del WCST, on mostren un major nombre d'errors perseveratius donada la seva incapacitat de canviar l'estratègia de classificació quan se'ls requereix classificar les cartes segons un altre criteri. Aquests dèficits s'atribueixen específicament a les alteracions en el canvi de criteri atencional, entès com el manteniment d'un estat de preparació per respondre a un estímul; l'estat que facilita l'òptima resposta per a una determinada situació (Shakow, 1962), un estat d'activitat cerebral que predisposa el subjecte a respondre de manera òptima a un determinat aspecte de l'ambient més que a un altre i que implica selectivitat a nivell d'estímul i de resposta (Kopp *et al.*, 2006). Tant els pacients esquizofrènics com els infants amb TDAH mostren marcades alteracions en el canvi de criteri i es creu que aquestes alteracions poden venir donades en part per l'alteració de l'activitat de les vies dopaminèrgiques mesocorticals. De fet,

els tractaments farmacològics que provoquen un augment de la transmissió dopaminèrgica, com l'amfetamina o el metilfenidat, poden alleujar les alteracions en el canvi de criteri associades a aquestes patologies (Daniel *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 2004), la qual cosa aporta una evidència indirecta de que el sistema dopaminèrgic mesocortical facilita la flexibilitat a través de l'escorça prefrontal (Floresco i Magyar, 2006).

De manera semblant al que ocorre amb la memòria de treball, l'activitat del receptor D₁ a l'escorça prefrontal té un paper crucial en el canvi de criteri malgrat que els mecanismes implicats en una i altra funció semblen mostrar diferències. En aquest sentit, Floresco i Magyar (2006) van estudiar el rol funcional dels receptors D₂ i D₄ de l'escorça prefrontal mitjançant antagonistes d'aquest receptors i l'efecte de l'estimulació dels receptors D₁, D₂ i D₄ mitjançant agonistes selectius per a cadascun d'ells. A diferència del que s'ha observat en els estudis de memòria de treball, el bloqueig dels receptors D₂ a l'escorça prefrontal per mitjà d'infusions d'eticlopride alterava la capacitat de canviar d'una estratègia de discriminació a una altra. Aquesta alteració és similar a la produïda per l'administració de l'SCH 23390, un antagonista del receptor D₁, donat que consistia en un augment dels errors perseveratius, mentre que deixava intactes les capacitats per adquirir o mantenir noves estratègies. Segons Floresco i Magyar (2006) aquests resultats suggereixen que les funcions de *set shifting* depenen de la interacció cooperativa entre receptors D₁ i D₂. Així, l'activació dels receptors D₂ facilitaria la capacitat de l'escorça prefrontal per deixar de banda una antiga estratègia i comparar la viabilitat d'opcions de resposta alternatives, mentre que els receptors D₁ s'encarregarien de facilitar l'estabilització d'una nova estratègia (Floresco i Magyar, 2006). A més, les infusions de l'agonista del receptor D₁ SKF 81297 o de l'agonista parcial SKF 38393 a dosis que produeixen alteracions en tasques de resposta demorada no empitjoren ni milloren el canvi de criteri. De manera similar, les infusions de l'agonista D₂ quinpirole no alteren l'execució. Aquestes dades indicarien que la funció en forma de U invertida que s'observa per a la modulació de la memòria de treball per part del receptor D₁ no semblaria ser vàlida per a les funcions de canvi de criteri controlades per l'escorça prefrontal (Floresco i Magyar, 2006).

El *Wisconsin Card Sorting Test* és una de les proves més emprades per avaluar les funcions executives en humans. Els estímuls emprats en aquest test exigeixen un control seqüencial sobre el criteri atencional, entès com el control sobre la direcció i/o redirecció de l'atenció cap a diversos aspectes dels estímuls com el color, la forma o el nombre d'objectes en cada carta (Kopp *et al.*, 2006). El component clau del WCST rau en el fet que l'atenció ha d'ésser transferida d'una dimensió perceptual a una altra (Robbins, 2005). Diversos treballs han estudiat l'efecte del genotip de la COMT sobre les funcions executives mitjançant el WCST. Egan *et al.* (2001) van trobar que el genotip de la COMT estava relacionat amb el rendiment en el WCST en pacients esquizofrènics, en els seus germans sans i en subjectes control. L'estudi va posar de manifest un efecte dosi de l'al·lel Val sobre el nombre d'errors perseveratius. Els subjectes homozigots per a aquest al·lel van ser els que varen mostrar un major nombre d'errors perseveratius, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met van obtenir-ne el menor nombre. El grup d'heterozigots va mostrar un nombre d'errors perseveratius entre els dels grups d'homozigots. Joobar *et al.* (2002) van replicar en part els resultats d'Egan *et al.* (2001). Van trobar una tendència cap a la significació del genotip de la COMT en el percentatge d'errors perseveratius en una mostra de pacients esquizofrènics i subjectes control. Els subjectes homozigots per a l'al·lel Val mostraven un major nombre d'errors perseveratius en comparació tant als subjectes homozigots per a l'al·lel Met com als subjectes heterozigots. Quan es van estudiar els controls i els pacients esquizofrènics per separat, aquesta tendència només es va mantenir en el grup de pacients. En un estudi amb subjectes sans, Malhotra *et al.* (2002) van observar que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met feien menys errors perseveratius que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val i que els subjectes heterozigots, els quals mostraven un rendiment similar. Rosa *et al.* (2004), en una mostra formada per pacients esquizofrènics i els seus germans sans, van trobar que en aquests darrers hi havia una relació inversa entre el nombre d'al·lells Met i el nombre d'errors perseveratius. En canvi, en el grup de pacients no van observar que el genotip de la COMT incidís sobre el rendiment. Ho *et al.* (2005) tampoc no van trobar cap efecte del genotip de la COMT sobre el rendiment en el WCST en un estudi en pacients esquizofrènics i controls sans, al contrari que Bruder *et al.*

(2005), els quals van tornar a observar en una mostra d'adults sans que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met exhibien un millor rendiment, en termes del nombre total d'errors, que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val, però que no diferien respecte el grup d'heterozigots. Minzenberg *et al.* (2006) van estudiar pacients amb trastorn esquizotípic de la personalitat i controls sans i van trobar un efecte independent del diagnòstic del genotip de la COMT sobre el nombre d'errors perseveratius en el WCST, amb el genotip Val/Val associat a un major nombre d'errors perseveratius. Recentment, un estudi dut a terme per Szöke *et al.* (2006) no ha pogut trobar cap efecte del genotip de la COMT sobre les funcions executives en cap dels quatre grups estudiats: pacients esquizofrènics, pacients bipolars, els parents d'aquests pacients i subjectes control.

En resum, diversos estudis han investigat l'associació entre el polimorfisme Val¹⁵⁸Met de la COMT i les funcions executives mesurades mitjançant el nombre d'errors perseveratius del WCST. L'associació s'ha observat en parents de pacients esquizofrènics (Rosa *et al.*, 2004), en controls (Malhotra *et al.*, 2002) i en grans mostres heterogènies en les que pacients esquizofrènics es barrejaven amb els seus parents sans i/o amb els controls (Egan *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002; Minzenberg *et al.*, 2006). Malgrat això, molts estudis no han pogut demostrar aquesta associació en pacients esquizofrènics (Egan *et al.*, 2001; Bilder *et al.*, 2002; Joober *et al.*, 2002; Rosa *et al.*, 2004; Szöke *et al.*, 2006), en controls normals (Tsai *et al.*, 2003; Bruder *et al.*, 2005; Szöke *et al.*, 2006) o en mostres mixtes (Ho *et al.*, 2005; Szöke *et al.*, 2006).

L'efecte de la COMT sobre l'activitat de l'escorça prefrontal dependrà de en quin lloc de la corba en U invertida es trobi el subjecte en qüestió, en funció de quin sigui el seu context genètic i ambiental. Aquest efecte estarà influït per múltiples factors, incloent factors d'estat, com l'estrès que pateixi l'individu, el qual afecta els nivells de dopamina prefrontal (Thierry *et al.*, 1976), i factors de tret, com la dotació genètica en la que el genotip de la COMT s'expressa (Tunbridge *et al.*, 2006). Una prova d'aquesta hipòtesi rau en els pacients de la malaltia de Parkinson o del TDAH (Foltynie *et al.*, 2004; Bellgrove *et al.*, 2005),

en els quals l'al·lel Met i no pas el Val és el que s'ha associat a un menor rendiment de l'escorça prefrontal, la qual cosa suggereix que l'efecte del polimorfisme Val¹⁵⁸Met depèn d'altres factors que també afecten l'activitat dopaminèrgica. Una prova n'és l'efecte diferencial de l'administració d'amfetamina o tolcapone en subjectes normals en funció del seu genotip de la COMT (Mattay *et al.*, 2003; Apud *et al.*, 2007). En els subjectes homozigots per a l'al·lel Val s'observen millores tant en l'eficiència de l'escorça prefrontal,

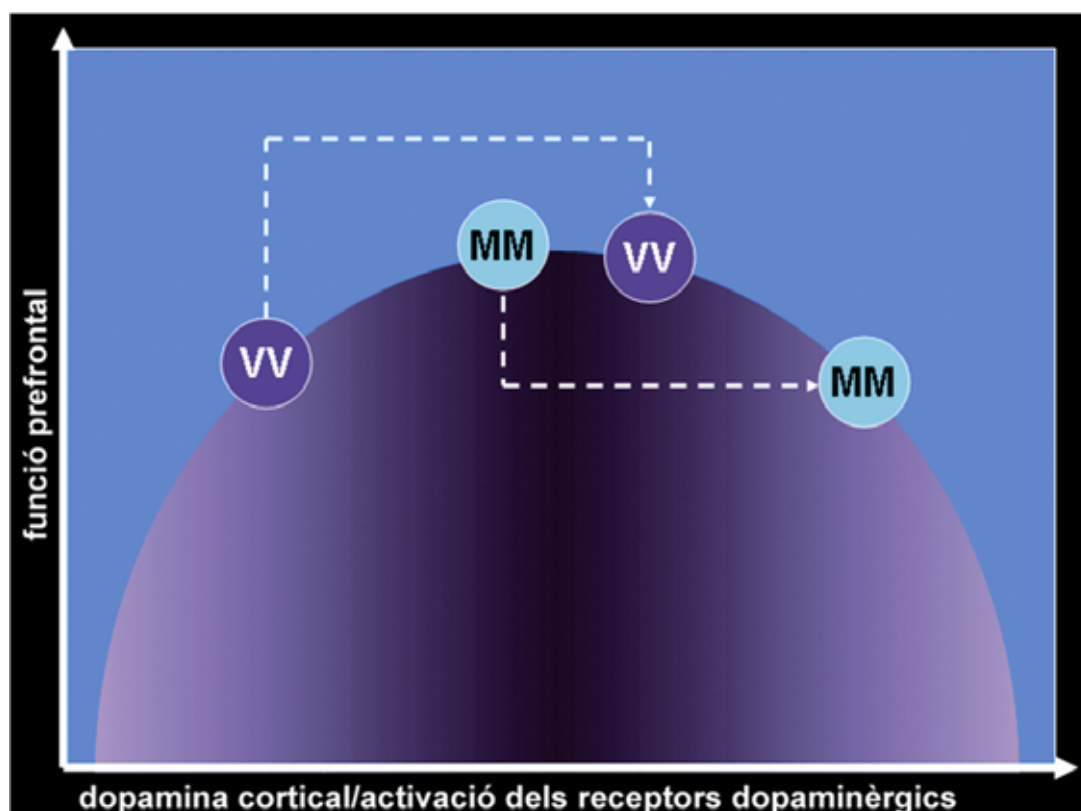


Figura 6. Efecte del genotip de la COMT sobre la relació en forma de U invertida entre la dopamina i la funció prefrontal. Els subjectes homozigots per a l'al·lel Val, donada la major activitat enzimàtica, es trobarien amb uns nivells subòptims de dopamina a l'escorça prefrontal, mentre que els homozigots per a l'al·lel Met tindrien uns nivells propers als nivells òptims. Per tant, aquells factors que duguessin a augments de la concentració de dopamina a l'escorça prefrontal desplaçarien els subjectes homozigots per a l'al·lel Met cap a nivells supraòptims de dopamina, amb el consegüent

empitjorament de la funció prefrontal. En canvi, en els subjectes homozigots per a l'al·lel Val els augments de la disponibilitat dopaminèrgica cortical els acostaria cap als nivell òptims. Adaptat de Tunbridge et al. (2006).

mesurada mitjançant RMf, com en el rendiment en funcions executives, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met, els quals mostren un rendiment en condicions normals superior al dels portadors de l'al·lel Val, mostren una reducció en l'eficiència prefrontal i en el rendiment. Aquestes dades concorden amb la concepció de la relació en forma de U invertida entre els nivells de dopamina i la funció prefrontal. Per una banda, els subjectes homozigots per a l'al·lel Val generalment tenen un to dopaminèrgic subòptim, el qual augmenta amb l'administració d'amfetamina o tolcapone i els porta a millorar l'eficiència i el rendiment. Per altra banda, els subjectes homozigots per a l'al·lel Met normalment estan a prop dels nivells òptims d'activitat dopaminèrgica, de manera que l'administració d'amfetamina o tolcapone els trasllada a una posició supraòptima que els fa baixar el rendiment i l'eficiència (Tunbridge *et al.*, 2006) (**Figura 6**).

Tunbridge *et al.* (2006) fan referència a dues possibles hipòtesis explicatives del paper de la COMT en la compensació entre estabilitat i flexibilitat cognitiva. Una hipòtesi és la proposada per Winterer i Weinberger, la qual fa èmfasi en la dopamina prefrontal en la determinació de l'estabilitat cognitiva. Suggereixen que la relativament baixa activitat de la COMT com a resultat de l'al·lel Met porta a una elevació dels nivells de dopamina prefrontal, la qual cosa permet la difusió del neurotransmissor més enllà de l'esclatxa sinàptica i d'aquesta manera activar els receptors D₁. Inversament, l'elevada activitat de la COMT pròpia de l'al·lel Val limitaria la difusió del neurotransmissor de la sinapsi, cosa que afavoriria l'estimulació dels receptors D₂. L'estimulació dels receptors D₁ potenciarà l'excitabilitat relacionada amb l'input de les neurones piramidals i augmentarà el feedback inhibitori a les neurones que no reben l'input, de manera que es milloraria la relació entre senyal i soroll local i s'estabilitzaria la representació neural. Per contra,

l'activació dels receptors D_2 reduiria l'activitat inhibidora local de les interneurons, la qual cosa resultaria en una excitabilitat no específica de les neurones piramidals. Aquest fet conduiria a la reducció de la inhibició local i de la relació entre senyal i soroll, de manera que interferiria en l'actualització de les representacions neurals. Així, l'activació dels receptors D_1 afavorida per l'al·lel Met resultaria en una millor relació entre senyal i soroll.

Per altra banda, Bilder *et al.* (2004) plantegen un model que posa l'èmfasi al nucli estriat, tenint en compte com la COMT pot influir sobre el model tònic-fàsic de transmissió dopaminèrgica estriatal. Els nivells de dopamina a l'estriat es mantenen a través de dos processos: uns nivells tòncics de dopamina extracel·lular i un alliberament fàsic breu. L'amplitud de l'alliberament fàsic de dopamina està modulada pels nivells tòncics, els quals a la vegada estan regulats per l'activitat neuronal dopaminèrgica estriatal basal i pel feedback corticoestriatal. Bilder *et al.* (2004) proposen que l'al·lel de baixa activitat de la COMT està associat amb un augment de la transmissió dopaminèrgica subcortical tònica, amb una simultània reducció en la transmissió dopaminèrgica fàstica i un augment de l'activitat cortical dels receptors D_1 . Aquesta situació portaria a una major estabilitat però una menor flexibilitat dels estats d'activació de les xarxes neuronals.

Els efectes del genotip de la COMT també dependran de les característiques de la tasca en qüestió (Bilder *et al.*, 2004). En aquest sentit, l'al·lel Met, que s'ha descrit com beneficiós per al rendiment en tasques de memòria de treball i funcions executives, sembla estar associat a respostes afectives anormals (Smolka *et al.*, 2005; Drabant *et al.*, 2006; Weiss *et al.*, 2007).

1.6.3. L'atenció

Estudis lesionals han demostrat la implicació de la dopamina en la regulació dels processos atencionals. La lesió de les neurones dopaminèrgiques mesolímbiques en gats provocava una reducció del

component atencional de la conducta. També, els ritmes electrocorticals associats a la conducta atencional desapareixen bé mitjançant la lesió de les neurones dopaminèrgiques mesencefàliques (Montaron *et al.*, 1982; Montaron *et al.*, 1984) o amb la injecció de neurolèptics (Bouyer *et al.*, 1979). A més, les descàrregues de les neurones dopaminèrgiques mesurades a nivell del mesencèfal en animals correlacionen amb els processos atencionals (Montaron *et al.*, 1979; Montaron *et al.*, 1982). Aquestes dades recolzen la idea dels efectes distractors de les lesions dopaminèrgiques, mentre que els nivells òptims de transmissió dopaminèrgica contribuirien a fixar l'atenció. Com les influències dopaminèrgiques corticals i subcorticals contribueixen a la regulació dels processos atencionals encara no està del tot establert. Els pacients amb TDAH, els quals mostren dificultat de concentració i d'atenció selectiva, milloren amb l'estimulació de la transmissió dopaminèrgica mitjançant l'administració de psicoestimulants (Tassin *et al.*, 1978). Experiments amb micos han trobat que un subgrup de neurones del nucli estriat mostra canvis en l'activitat altament correlacionats amb processos atencionals espacials (Boussaoud i Kermadi, 1997), cosa que suggereix que aquesta estructura forma part d'una xarxa implicada en l'atenció selectiva, probablement a través de les seves connexions amb l'escorça frontal (Nieoullon, 2002).

1.7. Dopamina i emocions

Hi ha evidències directes i indirectes que suggereixen la implicació de la dopamina en el processament emocional. D'una banda, els efectes que exerceix l'administració d'agents dopaminèrgics sobre el processament de les emocions aporten coneixement directe sobre la implicació de la dopamina en el processament emocional. D'altra banda, l'alteració dels processos emocionals en patologies neurològiques i psiquiàtriques en les que està implicada la dopamina com la malaltia de Parkinson (Jacobs *et al.*, 1995; Sprengelmeyer *et al.*, 2003), l'esquizofrènia (Kee *et al.*, 2006; Schneider *et al.*, 2006) o el TDAH (Singh *et al.*, 1998) evidencia de forma indirecta el paper que aquest neurotransmissor té en la regulació de les emocions (Salgado-Pineda *et al.*, 2005).

Diversos estudis han demostrat l'efecte que sobre el processament emocional tenen les substàncies potenciadores de la transmissió dopaminèrgica. En aquest sentit, Hariri *et al.* (2002) van observar en una mostra de subjectes sans que l'administració de D-amfetamina augmentava l'activació de l'amígdala dreta durant el processament de les expressions facials de por i enuig. Delaveau *et al.* (2005), també en un estudi amb subjectes sans, van trobar que l'administració d'L-DOPA feia desaparèixer l'activació a l'amígdala observada durant la fase de placebo en una tasca passiva de percepció d'emocions facials. Aquesta disparitat en els resultats podria venir donada, a més de per les diferències en els estímuls i tipus de tasca emprats, per l'acció diferencial de la dopamina. L'L-DOPA és un precursor de la dopamina, mentre que la D-amfetamina és un agonista monoaminèrgic indirecte i la seva acció produeix un augment de la transmissió dopaminèrgica i noradrenèrgica a través de la depleció vesicular i del transport revers del neurotransmissor (Salgado-Pineda *et al.*, 2005). En els malalts de Parkinson s'observa una alteració en el reconeixement d'emocions, la qual és més consistent en els pacients no medicats (Breitenstein *et al.*, 2001; Sprengelmeyer *et al.*, 2003). També en pacients de Parkinson, Tessitore *et al.* (2002), mitjançant RMf, van trobar que l'administració d'L-DOPA restablia de manera parcial l'activació de l'amígdala durant el processament d'expressions facials de por i enuig.

L'administració d'antipsicòtics també ha permès estudiar l'efecte de la dopamina sobre les emocions. S'ha vist que l'administració de sulpiride, un antagonista dels receptors tipus D₂, genera una alteració selectiva del reconeixement d'expressions facials de por, mentre que deixa intacte el reconeixement d'altres emocions en una mostra de voluntaris sans (Lawrence *et al.*, 2002). D'altra banda, Gaebel i Wolwer (1992) no van trobar que el tractament amb haloperidol o perazina tingués cap influència sobre l'alteració en el reconeixement d'emocions que mostraven els pacients esquizofrènics que van estudiar. Kee *et al.* (1998) van comparar els efectes de la risperidona i l'haloperidol sobre la capacitat d'avaluació d'expressions facials en pacients esquizofrènics i van observar que la risperidona produïa una major millora en el reconeixement d'emocions.

Els estudis encaminats a avaluar els substrats neurals del processament emocional semblen indicar que aquest processament depèn del funcionament de dos sistemes neurals. L'un, el sistema ventral, estaria format per l'amígdala, l'ínsula, l'estriat ventral i les regions ventrals de la circumvolució cingulada anterior i de l'escorça prefrontal, i s'encarregaria de la identificació de la significació emocional dels estímuls, de la producció d'estats afectius i de la regulació automàtica i la mediació de les respostes autònomes. L'altre, el sistema dorsal, el formarien l'hipocamp i les regions dorsals de la circumvolució cingulada anterior i de l'escorça prefrontal, i tindria un paper predominant en la regulació dels estats afectius (Phillips *et al.*, 2003; Salgado-Pineda *et al.*, 2005).

Estudis amb animals han destacat la importància de l'amígdala en la resposta inicial a estímuls emocionalment rellevants. En aquest sentit s'ha observat que les neurones d'aquesta estructura responen de manera selectiva davant de cares i a la direcció de la mirada en primats no humans (Brothers i Ring, 1993). Altres estudis han implicat l'ínsula en la resposta inicial a estímuls emocionals. L'ínsula anterior comparteix connexions anatòmiques recíproques amb l'amígdala (Augustine, 1996) i forma part d'una xarxa d'estructures que inclou l'amígdala, l'escorça prefrontal i l'hipotàlem, les quals semblen participar en la percepció i organització de les respostes autònomes davant estímuls aversius i amenaçadors (Phillips *et al.*, 2003).

En humans, mitjançant tècniques d'estimulació (Heit *et al.*, 1988) i a través de l'estudi de pacients amb lesions a l'amígdala s'ha relacionat aquesta estructura amb la resposta a estímuls de por tant visuals (Adolphs *et al.*, 1994; Phelps i Anderson, 1997) com auditius (Scott *et al.*, 1997). D'altra banda, Calder *et al.* (2001) van examinar un pacient amb una lesió focal de l'ínsula i van trobar que mostrava afectació del reconeixement d'expressions facials i vocals de fàstic.

Els estudis que han emprat tècniques de neuroimatge funcional han demostrat un augment del flux sanguini cerebral en l'amígdala no només durant la presentació d'expressions facials de por (Breiter *et al.*, 1996; Morris *et al.*, 1996; Phillips *et al.*, 1997; Phillips *et al.*, 2001; Wright *et al.*, 2001), sinó també

durant la presentació de les expressions de tristesa (Blair *et al.*, 1999) i alegria (Breiter *et al.*, 1996). Per la seva banda, l'ínsula ha estat implicada en el condicionament de la por (Buchel *et al.*, 1999) i durant l'anticipació d'estímuls aversius (Phelps *et al.*, 2001), la qual cosa ha suggerit un paper d'aquesta estructura en la transmissió de la informació sensorial aversiva cap a l'amígdala. L'ínsula, juntament amb l'estriat ventral i el tàlem, també ha estat implicada en la identificació de manifestacions de fàstic (Phillips *et al.*, 1997).

L'ínsula i l'amígdala no només han estat implicades en la identificació de la significació emocional dels estímuls, sinó també en la producció d'estats afectius i de conductes emocionals (Phillips *et al.*, 2003). En aquest sentit, les lesions bilaterals de l'amígdala produeixen canvis importants en el comportament social en micos, incloent-hi hiperoralitat, desinhibició social i absència de reaccions emocionals sovint associades a estats emocionals (Zola-Morgan *et al.*, 1991). Les lesions de l'amígdala en micos produeixen una reducció de la resposta autònoma davant d'estímuls emocionals rellevants i durant situacions ansiògenes, així com alteració del condicionament de la por (Gallagher *et al.*, 1990). A més, l'estimulació elèctrica de l'amígdala produeix símptomes autònoms de por i ansietat (Phillips *et al.*, 2003). Les lesions de l'ínsula anterior i de l'escorça prefrontal adjacent han donat com a resultat una reducció en la reacció de por (Morgan i LeDoux, 1999). Els estudis de neuroimatge funcional han demostrat activació de l'amígdala en resposta a la inducció tant d'estats emocionals positius com negatius (Reiman *et al.*, 1997), durant el condicionament de la por (LaBar *et al.*, 1998; Buchel *et al.*, 1999) i en resposta a la presentació inconscient d'estímuls consistents en expressions facials de por i enuig (Morris *et al.*, 1998; Whalen *et al.*, 1998). A l'ínsula anterior s'han detectat increments del rec sanguini durant la percepció de dolor i, en subjectes sans, durant la inducció de tristesa i anticipació de l'ansietat (Phillips *et al.*, 2003).

Estudis de ressonància magnètica funcional que han emprat tasques de reconeixement facial han suggerit diferents sistemes neurals implicats en el reconeixement de diferents expressions facials. L'amígdala semblaria estar implicada no només en el reconeixement de la por, sinó també en la

identificació de les emocions de felicitat i tristesa. Per altra banda, l'escorça insular anterior i el putamen es més probable que estiguin implicats en el reconeixement d'expressions aversives, mentre que l'enuig semblaria estar associat a l'escorça cingulada anterior i a les regions orbitofrontals (Salgado-Pineda *et al.*, 2005).

L'efecte del genotip de la COMT sobre l'activació cerebral durant tasques emocionals va ser estudiat per Smolka *et al.* (2005). Els autors van estudiar l'efecte del genotip de la COMT sobre l'activació cerebral durant la presentació d'estímuls visuals estandarditzats en una mostra de subjectes sans. El nombre d'al·lels Met es va correlacionar amb el senyal d'RMf produït per la presentació d'estímuls agradables i desagradables comparat amb estímuls neutres. El genotip de la COMT no va mostrar cap impacte significatiu sobre l'activació cerebral durant la presentació d'estímuls agradables, però sí estava relacionada amb la presentació d'estímuls desagradables. La reactivitat als estímuls desagradables estava positivament correlacionada amb el nombre d'al·lels Met. Aquest efecte es va observar en àrees límbiques, prefrontals i del sistema atencional visuoespacial. Posteriorment, Drabant *et al.* (2006) van trobar una associació entre l'al·lel Met i l'activació de la formació hipocampal i l'escorça prefrontal ventrolateral durant el processament de cares de por i enuig. A més, van observar que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met mostraven un major acoblament funcional entre àrees límbiques i prefrontals que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val. Conductualment, s'ha observat que els subjectes homozigots per a l'al·lel Val mostren un millor i més ràpid reconeixement d'expressions facials negatives com l'enuig i la tristesa (Weiss *et al.*, 2007).

1.8. Dopamina i patologia

L'alteració de la transmissió dopaminèrgica és present en diverses patologies psiquiàtriques i neurològiques com l'esquizofrènia, el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat, el Parkinson i l'abús de substàncies.

1.8.1. Dopamina i esquizofrènia

Tot i que sembla poc probable que un únic sistema de neurotransmissió expliqui per si sol una patologia tan complexa com l'esquizofrènia o que la patologia cerebral implicada afecti només un sistema de neurotransmissió, hi ha evidència a favor de la dopamina com a variable neuroquímica de gran importància en la patofisiologia de l'esquizofrènia (Weinberger, 1987). Malgrat que també el glutamat ha estat relacionat amb l'esquizofrènia, la hipòtesi de la hiperdopaminèrgia va ser postulada inicialment com la principal causa de la simptomatologia positiva de la malaltia (Egan i Weinberger, 1997; Lewis i Lieberman, 2000). Aquesta hipòtesi es basava en l'observació experimental que les drogues antipsicòtiques actuaven com a antagonistes dels receptors D₂ dopaminèrgics i en el fet que la seva eficàcia clínica correlacionava amb la seva capacitat com a antagonistes d'aquests receptors. A més, les substàncies que eleven l'activitat dopaminèrgica acostumen a exacerbar els símptomes positius de l'esquizofrènia (Weinberger, 1987; Davis *et al.*, 1991; Abi-Dargham i Moore, 2003; Goldman-Rakic *et al.*, 2004). Donada la predominant localització de terminals dopaminèrgiques i de receptors D₂ en regions subcorticals com els nuclis estriat i acumbens, la hipòtesi dopaminèrgica clàssica de l'esquizofrènia implicava principalment aquestes regions subcorticals (Abi-Dargham i Moore, 2003). Malgrat que tradicionalment les mesures d'eficàcia clínica es definien en termes d'alleujament de la simptomatologia positiva i no per la millora de la simptomatologia negativa i els dèficits cognitius, cada cop és més acceptada la idea que l'alteració cognitiva és el dèficit central en l'esquizofrènia. En aquest sentit, s'ha postulat que dèficits en la memòria de treball estarien darrere dels dèficits cognitius que s'observen en aquesta patologia. El fet que la preservació de la memòria de treball en pacients esquizofrènics s'hagi mostrat com el millor predictor de l'evolució, incloent-hi la reintegració social i la probabilitat de patir recaigudes, reforça aquesta concepció (Goldman-Rakic *et al.*, 2004).

L'acumulació de noves dades ha posat en entredit la validesa de la hipòtesi de l'excés de dopamina com a explicació de l'esquizofrènia. Per exemple, hi ha una proporció considerable de pacients que són resistents al tractament amb antipsicòtics, cosa que suggereix la implicació d'altres sistemes

de neurotransmissió en la patologia. A més, la simptomatologia positiva pròpia de l'esquizofrènia no és fàcilment reproduïble en subjectes no esquizofrènics mitjançant l'administració de substàncies que augmenten la transmissió dopaminèrgica. En tercer lloc, els antipsicòtics només s'han mostrat parcialment efectius a l'hora de tractar la simptomatologia negativa, especialment després de la resolució d'una fase aguda de la malaltia, cosa que suggereix que aquesta simptomatologia pot no estar relacionada amb una excessiva activitat dopaminèrgica. També s'ha fet evident que la hipòtesi d'una hiperactivitat dopaminèrgica arreu del cervell dels pacients esquizofrènics és insostenible, donat que hi ha estudis *post mortem* i del líquid cefaloraquídi que no mostren un excés dopaminèrgic homogeni en tot el cervell en l'esquizofrènia. Tanmateix, la presència d'anormalitats corticals consistents amb una funció hipodopaminèrgica i la seva possible relació amb la simptomatologia negativa, la relació recíproca entre hipodopaminèrgia cortical i hiperdopaminèrgia subcortical (Pycock *et al.*, 1980; Tzschentke, 2001) i la relació entre concentracions d'àcid homovalínic, simptomatologia i resposta als antipsicòtics evidencien el paper de la dopamina en l'esquizofrènia (Davis *et al.*, 1991). Tot això, juntament amb l'augment de la consciència de la importància de la durada de la simptomatologia negativa i cognitiva han dut a reformular la hipòtesi dopaminèrgica clàssica (Abi-Dargham i Moore, 2003). Així, la visió que predomina actualment sosté que en l'esquizofrènia existeix un desequilibri dopaminèrgic entre la transmissió dopaminèrgica cortical i la subcortical. Per una banda, les projeccions dopaminèrgiques subcorticals mesolímbiques serien hiperactives, la qual cosa resultaria en una hiperestimulació dels receptors D₂ i la consegüent simptomatologia positiva. D'altra banda, les projeccions dopaminèrgiques mesocorticals a l'escorça prefrontal serien hipoactives, la qual cosa portaria a una hipoestimulació dels receptors D₁, a la simptomatologia negativa i als déficits cognitius (Weinberger, 1987; Abi-Dargham i Moore, 2003; Goldman-Rakic *et al.*, 2004). Donada la influència inhibidòria que exerceix l'activitat dopaminèrgica cortical prefrontal sobre l'activitat subcortical (Kolachana *et al.*, 1995; Karreman i Moghaddam, 1996; Wilkinson, 1997), s'ha proposat que a l'esquizofrènia els sistemes cortical i subcortical de transmissió dopaminèrgica poden estar relacionats, donat que una deficiència en la funció

dopaminèrgica mesocortical pot traduir-se en una desinhibició de l'activitat dopaminèrgica mesolímbica (Weinberger, 1987; Abi-Dargham i Moore, 2003).

Hi ha diverses troballes que donen suport a l'existència d'una alteració en la transmissió dopaminèrgica en l'escorça prefrontal en l'esquizofrènia. Estudis *post mortem* han demostrat que hi ha una reducció significativa en la llargada dels axons immunoreactius a la tirosina-hidroxilasa a la capa VI de l'àrea de Brodmann 9 de l'escorça prefrontal dorsolateral en l'esquizofrènia comparat amb controls aparellats per edat i que correspon a una reducció de fins el 62% en la densitat d'aquests axons (Akil *et al.*, 1999; Akil *et al.*, 2000). Aquesta reducció en la innervació dopaminèrgica és consistent amb altres canvis neuropatològics com la reducció del neuropil i la reducció de la mida dels cossos de les neurones piramidals de la capa III (Selemon *et al.*, 1995; Pierri *et al.*, 2001). És probable que aquests canvis neuropatològics contribueixin a les diverses alteracions cognitives presents en l'esquizofrènia. A més, diversos estudis han descrit relacions entre alteracions en la disponibilitat del receptor dopaminèrgic D₁ i la funció cognitiva en l'esquizofrènia. S'ha observat, mitjançant estudis amb PET, que els canvis en el potencial de lligament dels receptors D₁ estan associats amb el rendiment cognitiu i/o amb els símptomes negatius de l'esquizofrènia. Okubo *et al.* (1997) van demostrar una regulació a la baixa dels receptors D₁ de l'escorça prefrontal de pacients esquizofrènics sense medicar i en pacients que mai havien estat medicats, la qual correlacionava positivament amb el nivell d'alteració de l'execució en el WCST. Un altre estudi amb pacients mai medicats no va observar cap canvi en el potencial de lligament dels receptors D₁ prefrontals, però si va trobar que la simptomatologia negativa correlacionava amb la densitat de receptors D₁ a l'escorça prefrontal dorsolateral (Karlsson *et al.*, 2002). Per contra, Abi-Dargham *et al.* (2002) van trobar un increment del potencial de lligament dels receptors D₁ de l'escorça prefrontal dorsolateral en pacients sense medicar i pacients que mai no havien estat medicats. Aquest increment predeïa l'alteració en el rendiment en l'*N-back*. Malgrat la manca de consistència en els resultats, sembla que existeix una relació entre el potencial de lligament dels receptors dopaminèrgics D₁ de l'escorça prefrontal dorsolateral i l'empitjorament cognitiu,

mesurat en termes de memòria de treball i de funcions executives (Goldman-Rakic *et al.*, 2004).

Alguns estudis *post mortem* també han trobat alteracions en els receptors D₂ en l'esquizofrènia (Lee *et al.*, 1978; Mackay *et al.*, 1982; Laruelle *et al.*, 2003), els quals coincideixen amb resultats obtinguts *in vivo* (Lee *et al.*, 1978). Aquests resultats han estat sovint descartats perquè suposadament venien donats pel propi tractament amb antipsicòtics. Tanmateix, estudis duts a terme en pacients lliures de medicació durant un any abans de l'estudi o que mai han estat medicats han detectat uns nivells majors de receptors D₂ estriatals que els observats en subjectes normals. A més, l'excés de receptors D₂ en animals tractats amb antipsicòtics és equivalent a la meitat de la diferència observada entre teixits *post mortem* de pacients esquizofrènic i subjectes normals (Crow *et al.*, 1978; Cross *et al.*, 1981; Mackay *et al.*, 1982; Seeman *et al.*, 1987; Toru *et al.*, 1988; Davis *et al.*, 1991). Els animals tractats amb antipsicòtics mostren un 30% més de receptors D₂ que els animals no medicats, mentre que en els cervells de pacients esquizofrènic s'ha trobat entre un 50 i un 60% més de receptors D₂ que en subjectes normals. Aquests resultats evidencien que el tractament amb antipsicòtics només explicaria una part de l'excés de receptors D₂ que s'ha trobat en els pacients esquizofrènic (Davis *et al.*, 1991).

Donada l'elevada expressió de la COMT a l'escorça prefrontal i donat que d'ella en depèn en part el metabolisme sinàptic de la dopamina en aquestes àrees, diversos treballs han anat encaminats a buscar els possibles efectes d'aquest enzim sobre l'esquizofrènia. Concretament, s'ha considerat l'al·lel Val de la COMT com un factor de risc per a la malaltia, donada la seva major activitat metabòlica que suposadament duria a una reducció de la funció dopaminèrgica a l'escorça prefrontal. En aquest sentit, diversos estudis han trobat una relació entre l'al·lel Val de la COMT i un pitjor rendiment en tasques pròpies de l'escorça frontal en pacients esquizofrènic, en els seus germans i en controls sans (Egan *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002; Malhotra *et al.*, 2002; Goldberg *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2004; Bruder *et al.*, 2005; de Frias *et al.*, 2005; Minzenberg *et al.*, 2006). D'altra banda, estudis amb tècniques de

neuroimatge funcional han descrit una relació entre l'al·lel Val i l'activació cerebral a l'escorça prefrontal (Egan *et al.*, 2001; Ho *et al.*, 2005; Bertolino *et al.*, 2006). La menor disponibilitat dopaminèrgica en els subjectes amb l'al·lel Val explicaria la menor activitat dels receptors D₁ de l'escorça prefrontal, a través dels quals es regulen les funcions cognitives pròpies d'aquestes àrees (Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1991; Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1994; Floresco i Magyar, 2006).

1.8.2. Dopamina i trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat

La idea de que una disfunció dopaminèrgica i noradrenèrgica estan darrere del TDAH va sorgir de l'observació que les substàncies administrades per tractar aquesta alteració feien augmentar la disponibilitat sinàptica d'aquests neurotransmissors i dels estudis amb animals que demostraven que les lesions a les vies dopaminèrgiques podien produir models animals del trastorn. El patró de dèficit neuropsicològic del TDAH es caracteritza per l'alteració de les funcions executives, com són la inhibició, la memòria de treball, el canvi de criteri, el control de les interferències, la planificació i l'atenció sostinguda, i es creu que està causat per una disfunció dels circuits frontals-subcorticals. De les estructures subcorticals associades amb el TDAH l'estriat ha rebut particular interès donada l'abundància de sinapsis dopaminèrgiques presents en aquesta regió, per la seva vulnerabilitat a les complicacions hipòxiques perinatals implicades en aquest trastorn i perquè les lesions en aquesta zona provoquen en animals hiperactivitat i manca de control inhibitori (Biederman i Faraone, 2005).

La hipòtesi de l'alteració dopaminèrgica en el TDAH té en consideració estructures frontals (prefrontals, motores, circumvolució cingulada), subcorticals (estriat i tàlem) i límbiques (nucli acumbens, amígdala i hipocamp). El nucli estriat sembla tenir un paper prominent en la simptomatologia. Els símptomes d'inatenció podrien estar relacionats amb el nucli estriat i la circumvolució cingulada (Bush *et al.*, 1999), la hiperactivitat amb el nucli estriat (Teicher *et al.*, 2000) i la impulsivitat amb el nucli acumbens (Cardinal *et al.*, 2001). L'alteració

de les funcions executives s'ha relacionat amb alteracions de l'escorça prefrontal (Castellanos, 1997; Dinn *et al.*, 2001).

Diverses evidències donen suport a la disfunció dopaminèrgica en el trastorn d'atenció. Els estudis farmacològics demostren que els agonistes dopaminèrgics milloren la simptomatologia del TDAH (Shenker, 1992; Greenhill *et al.*, 1999). Estudis genètics han trobat que els gens més relacionats amb la patologia són el del receptor dopaminèrgic D₄ (LaHoste *et al.*, 1996; Ebstein *et al.*, 1997; Rowe *et al.*, 1998; Swanson *et al.*, 1998) i el del DAT (Cook *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1997; Waldman *et al.*, 1998). En tercer lloc, estudis de neuroimatge han mostrat anomalies en el metabolisme de la dopamina (Ernst *et al.*, 1998; Ernst *et al.*, 1999), en el transportador (Dougherty *et al.*, 1999; Krause *et al.*, 2000) i en els receptors D₂ en el TDAH. Estudis anatòmics han trobat canvis morfològics en regions del cervell que són diana de les neurones dopaminèrgiques, com el lòbul frontal i el nucli estriat, en subjectes amb TDAH. Finalment, estudis amb tècniques funcionals han detectat una implicació de la circuiteria frontoestriada i del cingulat anterior (Bush *et al.*, 1999) en pacients amb TDAH (Volkow *et al.*, 2005).

Les teories sobre la implicació dopaminèrgica en la patofisiologia del TDAH s'han centrat en si els sistemes dopaminèrgics mostren una activitat augmentada o disminuïda, amb resultats favorables a ambdues concepcions. Una possible conciliació de les dues visions faria referència a l'existència de dues reserves dopaminèrgiques. Una reserva tònica que de manera crònica acumularia dopamina a l'espai sinàptic i estimularia els autorreceptors, i una reserva fàsica que seria alliberada de forma aguda en resposta a un impuls neuronal. L'alliberament fàsic és un punt clau de la transmissió d'informació. Tanmateix, l'alliberament tònic reduiria la magnitud de l'alliberament fàsic a través de l'estimulació dels autorreceptors. En el TDAH la reserva tònica estaria reduïda a les regions límbiques, la qual cosa conduiria a un alliberament fàsic excessiu en el nucli acumbens i, possiblement, en altres regions subcorticals, la qual cosa provocaria l'alteració del control motor i de l'impuls. Els estimulants, a través del bloqueig de la recaptació, farien augmentar els nivells de dopamina sinàptica, la qual difondria cap a l'espai extracel·lular i augmentaria els nivells

tònics del neurotransmissor. Uns nivells elevats de dopamina tònica augmentarien l'estimulació dels autorreceptors presinàptics, de manera que l'alliberament fàsic de dopamina es veuria reduït. D'aquesta manera, els nivells de dopamina tònica augmenten, i els de dopamina fàsica disminueixen, a nivells normals (Solanto, 2002; Pliszka, 2005).

1.9. Genètica, dopamina i patologia

1.9.1. Lligament entre el genotip de la COMT i l'esquizofrènia

La vulnerabilitat per l'esquizofrènia està clarament relacionada a factors genètics. Estudis de famílies, de bessons i d'adopció han demostrat que el risc de morbiditat de l'esquizofrènia en parents correlaciona amb el grau en què comparteixen el material genètic. En contrast amb l'1% d'incidència de l'esquizofrènia a la població general, la incidència és superior al 2% en parents de tercer grau d'un individu esquizofrènic, entre el 2 i el 6% en parents de segon grau i entre el 6 i el 17% en parents de primer grau. Entre bessons, la incidència és superior al 17% en els bessons dizigòtics de malalts esquizofrènics i de prop del 50% en els bessons monozigòtics. Els estudis d'adopció han demostrat que el risc d'esquizofrènia està relacionat amb la presència de la malaltia en els pares biològics, però no en els adoptius (Lewis i Lieberman, 2000).

Donat que es coneix que existeix una disfunció de la transmissió dopaminèrgica en l'esquizofrènia, la cerca de gens de susceptibilitat ha inclòs tots aquells que codifiquen pels diferents tipus de receptors dopaminèrgics (Macciardi *et al.*, 1994; Sobell *et al.*, 1995; Spurlock *et al.*, 1998; Kojima *et al.*, 1999), pel transportador de la dopamina (Daniels *et al.*, 1995) i per diversos enzims relacionats amb la síntesi i degradació de la dopamina (Coron *et al.*, 1996; Kunugi *et al.*, 1998; Speight *et al.*, 2000), malgrat que cap d'aquests gens s'ha mostrat d'una manera fiable com un factor de risc (Glatt *et al.*, 2003).

Com que codifica per un enzim rellevant per a la degradació de la dopamina prefrontal, diversos estudis han avaluat la possible associació del gen de la COMT amb l'esquizofrènia. A més, les delecions de la regió 22q11, lloc on es troba el gen que codifica per la COMT, estan associades a la síndrome cardiovelofacial, en la qual entre el 25 i el 29% dels pacients que la pateixen mostren característiques psicòtiques (Lewis i Lieberman, 2000; Riley i Kendler, 2006). Els estudis duts a terme fins a l'actualitat han aportat resultats contradictoris que fan difícil determinar si existeix cap relació entre aquest gen i l'esquizofrènia. Alguns dels estudis han trobat una relació entre l'al·lel Val i la malaltia (de Chaldee *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2000; Egan *et al.*, 2001; Shifman *et al.*, 2002; Wonodi *et al.*, 2003), mentre que d'altres han trobat la relació amb l'al·lel Met (Ohmori *et al.*, 1998; Kotler *et al.*, 1999). Tanmateix, la majoria d'estudis no ha pogut trobar cap relació entre aquest genotip i l'esquizofrènia (de Chaldee *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002; Fan *et al.*, 2005; Galderisi *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2005).

El polimorfisme Val¹⁵⁸Met de la COMT també ha estat relacionat amb altres patologies com el trastorn obsessiu-compulsiu (Karayiorgou *et al.*, 1999), la depressió (Ohara *et al.*, 1998a), el trastorn de pànic (Woo *et al.*, 2004; Rothe *et al.*, 2006), el trastorn bipolar (Papolos *et al.*, 1998; Rotondo *et al.*, 2002) i trastorns d'ansietat (McGrath *et al.*, 2004). En aquest sentit, l'al·lel Met s'ha relacionat amb la vulnerabilitat per a aquestes patologies, tot i que alguns estudis han descrit l'associació entre l'al·lel Val i el trastorn de pànic (Domschke *et al.*, 2004; Rothe *et al.*, 2006).

1.9.2. Lligament entre el genotip del DAT i el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat

L'heretabilitat del trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat s'estima que es troba entre el 75 i el 91% (Biederman i Faraone, 2005; Thapar *et al.*, 2005). La cerca de gens candidats ha estat centrada de manera majoritària, tot i que no exclusiva, en els gens codificants per proteïnes implicades en la transmissió dopaminèrgica (Thapar *et al.*, 2005). En base a diferents

evidències, el gen del DAT és un dels candidats implicats en la patofisiologia del TDAH. En primer lloc, els inhibidors de la recaptació de dopamina activen de manera indirecta els receptors dopaminèrgics. En aquest sentit, els receptors D₄ i D₅ s'han implicat en el TDAH, l'activitat dels quals potencia l'atenció. En segon lloc, el DAT és el principal lloc d'acció de la majoria de medicaments emprats per tractar la patologia. A més, el gen del DAT ha estat associat amb el TDAH. Finalment, alguns estudis han trobat nivells anormals del transportador de la dopamina en els cervells de pacients amb TDAH (Madras *et al.*, 2005).

El DAT és el principal mecanisme a través del qual la dopamina alliberada davant d'un estímul rellevant és eliminada de l'espai sinàptic. Mitjançant la regulació de la concentració de dopamina a les sinapsis el DAT regula tant la magnitud com la durada del senyal dopaminèrgic. El bloqueig del DAT, per tant, hauria d'augmentar la dopamina a les sinapsis, amb la consegüent amplifació del senyal generat en resposta a un determinat estímul (Volkow *et al.*, 2005). Donat que es creu que el mecanisme a través del qual actuen les substàncies estimulants en el TDAH és la inhibició del transportador de la dopamina, no és sorprenent que el gen que codifica per aquesta proteïna hagi estat el més estudiat (Thapar *et al.*, 2005). Una gran part dels estudis s'ha centrat en el VNTR situat a la regió 3' no codificant del gen. Alguns estudis han trobat una associació entre l'al·lel de 10 repeticions d'aquest gen i el TDAH (Cook *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1997; Waldman *et al.*, 1998; Madras *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2007). Alguns estudis apunten a que l'al·lel de 10 repeticions està associat a una major expressió del transportador de dopamina (Heinz *et al.*, 2000; Fuke *et al.*, 2001; Mill *et al.*, 2002; Cheon *et al.*, 2005; VanNess *et al.*, 2005), cosa que seria compatible amb la hipòtesi d'un excés de recaptació de dopamina en els pacients amb TDAH. Diversos estudis també han trobat major densitat de transportadors de dopamina en pacients amb TDAH (Dougherty *et al.*, 1999; Dresel *et al.*, 2000; Krause *et al.*, 2000; Madras *et al.*, 2002).

Altres gens que també han rebut atenció en la cerca d'associacions amb el TDAH són els dels receptors dopaminèrgics D₄ i D₅, el de la proteïna associada al sinaptosoma (SNAP-25) i els gens codificants pel transportador

(SLC6A4) i el receptor (HTR1B) de la serotonina (Biederman i Faraone, 2005; Thapar *et al.*, 2005). En canvi, els estudis dels gens de la COMT, la monoamino-oxidasa, el transportador de la noradrenalina i els receptors noradrenèrgics 2A, 2C i 1C han aportat resultats contradictoris o negatius (Faraone *et al.*, 2005).

1.10. Estudi de la influència genètica a través de la neuroimatge

L'obtenció de la seqüència del genoma humà ha permès l'estudi de les variacions en aquesta seqüència que tenen un impacte sobre la funció d'un determinat gen i amb això identificar els mecanismes biològics que contribueixen al comportament cognitiu i emocional, la qual cosa és de gran importància per entendre com sorgeixen les diferències individuals en aquests comportaments i com aquestes diferències poden conferir vulnerabilitat per als trastorns psiquiàtrics. Donat que aproximadament el 70% dels gens s'expressa al cervell, una bona part d'aquests gens pot exercir alguna influència sobre com el cervell processa la informació (Hariri i Weinberger, 2003).

L'estudi de l'associació entre gens i funcionament cerebral mitjançant tècniques de neuroimatge funcional és una àrea emergent i prometedora de recerca que ha de permetre caracteritzar la influència dels gens sobre la cognició i la conducta, així com el lligam entre la susceptibilitat genètica i els trastorns neuropsiquiàtrics. Els resultats dels estudis duts a terme fins a l'actualitat en aquest àmbit mostren el major potencial d'aquestes tècniques en l'anàlisi de la relació entre gens i funcionament cerebral en comparació a l'ús de mesures conductuals únicament. Els resultats també mostren que les tècniques de neuroimatge poden aportar llum a la influència dels gens sobre la funció cerebral fent servir mostres relativament petites, de vegades fins i tot en absència de diferències significatives en les mesures conductuals. L'avantatge d'aquest mètode respecte als tests neuropsicològics tradicionals és que mesuren directament l'impacte que té el gen a nivell del processament de la informació en regions o xarxes cerebrals concretes que es posen en funcionament durant la realització d'una determinada tasca. Per contra, les

mesures conductuals tradicionals poden veure's influïdes per l'ús d'estratègies alternatives per fer front a la tasca, pel nivell de cooperació i per altres factors que poden emmascarar l'efecte potencial del gen sobre els substrats neuronals que suposadament posen en funcionament els tests (Mattay i Goldberg, 2004).

Malgrat que els gens no poden explicar per si sols la majoria d'aspectes conductuals i malgrat que la majoria de variabilitat en termes de processament de la informació no estarà determinada genèticament, les variacions en la seqüència genètica poden contribuir en certa mesura a la variabilitat d'aquest fenomen. El fet que diversos aspectes de la cognició, el caràcter i la personalitat hagin mostrat heretabilitats de fins al 70% (McGuffin *et al.*, 2001) n'és una prova a favor (Hariri i Weinberger, 2003).

L'estudi de la relació entre un al·lel o gen i un determinat fenotip sovint comença amb la selecció d'un aspecte biològic propi d'una determinada condició o patologia, per tot seguit identificar variacions en gens que poden tenir un cert impacte sobre el procés biològic objecte d'estudi i, finalment, cercar evidència de que la freqüència d'una determinada variant o al·lel és més abundant en les poblacions que tenen la condició o la patologia. L'estudi de la influència dels gens mitjançant neuroimatge és una forma d'anàlisi d'associació genètica en la que el fenotip no és la malaltia, sinó la resposta fisiològica del cervell durant un processament específic de la informació (Hariri i Weinberger, 2003).

Segons Hariri i Weinberger (2003), l'aplicació de les tècniques de neuroimatge funcional a l'estudi dels efectes genètics comprendria tres principis bàsics. En primer lloc, pel que fa a la selecció dels gens candidats, aquesta hauria de començar en el mateix lloc en què comença l'estudi de l'efecte dels gens sobre el comportament, com per exemple un determinat polimorfisme funcional que hagi estat ben caracteritzat. Les variacions genètiques en aquests gens han d'haver estat associades a uns determinats efectes biològics a nivell cel·lular i el seu impacte hauria d'haver estat descrit en diferents regions i circuits cerebrals, de tal manera que es puguin elaborar paradigmes per tal d'explorar els seus efectes a nivell local sobre el processament de la informació

tant en subjectes normals com en patològics. Per contra, l'estudi de gens i variacions sense unes implicacions funcionals a nivell cerebral ben descrites requereixen d'una major precaució tant pel que fa al disseny de la tasca com a la interpretació de les diferents respostes cerebrals. Un segon aspecte a tenir en compte és el control dels factors no genètics. En aquest sentit, la contribució d'un únic gen a la resposta cerebral, tot i que suposadament més substancial que sobre els fenòmens conductuals, és encara petita. A més, efectes típicament grans com els de l'edat, el gènere, el quocient d'intel·ligència o fins i tot factors ambientals com la patologia, les lesions o l'abús de substàncies poden emascarar el petit efecte potencial dels gens. Per tant, la identificació i l'estudi de la contribució de les variacions d'un gen sobre un determinat fenotip ha de tenir en compte que els potencials factors contribuïdors i de confusió han d'estar ben aparellats en els diferents grups. A més, si el protocol de neuroimatge implica rendiment en alguna tasca, els grups també haurien d'estar aparellats pel nivell d'execució, donat que l'execució i les dades d'imatge estan íntimament relacionades i les diferències sistemàtiques en el rendiment entre grups podrien ocultar el possible efecte genètic. Per últim, és de gran importància la selecció de la tasca de neuroimatge funcional. Donat el relativament petit efecte que pot exercir un únic gen, fins i tot després de controlar pels factors no genètics i altres variables de confusió, les tasques de neuroimatge han de maximitzar la sensibilitat i el valor inferencial. És important, per tant, seleccionar tasques que estiguin ben caracteritzades i que siguin efectives a l'hora de posar en marxa determinades regions i sistemes cerebrals, que produeixin senyals robustos en cada subjecte i que mostrin variabilitat interindividual.

PLANTEJAMENT I OBJECTIUS

2. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS

En els dos estudis que formen aquesta tesi ens proposem estudiar l'efecte de les variants genètiques de la catecol-o-metiltransferasa i del transportador de la dopamina sobre l'activació cerebral relacionada amb la memòria de treball i el processament d'emocions, així com el seu impacte sobre les funcions cognitives prefrontals. A tal efecte, estudiarem, mitjançant la tècnica de ressonància magnètica funcional i l'administració de proves prefrontals, una mostra de subjectes sans sense antecedents familiars de malaltia psicòtica, dels quals haurem obtingut prèviament el genotip per als polimorfismes Val^{108/158} Met de la COMT i 40 bp VNTR del DAT.

L'estudi del sistema dopaminèrgic i de les funcions cerebrals lligades a ell, com són la memòria de treball i altres funcions executives i el processament emocional, és de gran interès donat el nombre de patologies en les quals s'ha descrit una alteració de la transmissió dopaminèrgica i el consegüent deteriorament de les funcions que d'ella en depenen (esquizofrènia, trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat, malaltia de Parkinson, etc.).

2.1. Estudi *N-back*

2.1.1. Objectiu

L'objectiu del primer estudi va ser avaluar l'efecte dels polimorfismes Val^{108/158} Met de la COMT i 40 bp VNTR del DAT sobre el funcionament prefrontal. Per a això, els subjectes van ser sotmesos a una adquisició d'imatges de ressonància magnètica funcional mentre duïen a terme una tasca de memòria de treball, l'*N-back*, per tal d'avaluar l'efecte dels dos genotips sobre la fisiologia de les àrees cerebrals que sustenten aquesta funció. A més, es van administrar als subjectes dues proves conductuals per avaluar la funció prefrontal: el *Wisconsin Card Sorting Test* i el *Continuous Performance Test*. Diversos estudis han evidenciat que el rendiment en aquestes proves es troba afectat en subjectes que mostren patologies neurològiques i psiquiàtriques que impliquen el sistema dopaminèrgic (Paolo *et al.*, 1996; Egan *et al.*, 2001; Joobar *et al.*, 2002; Epstein *et al.*, 2003; Witt *et al.*, 2006).

2.1.2. Hipòtesis

Basant-nos en la implicació del sistema dopaminèrgic en les funcions executives i en la literatura descrita a la introducció, les hipòtesis de l'estudi *N-back* són les següents:

- 1) L'activació cerebral evocada per la tasca de l'*N-back* estarà directament relacionada amb l'al·lel Val de la COMT, en el sentit que els portadors d'aquest al·lel mostraran una major activació cerebral per a un mateix rendiment cognitiu.
- 2) El rendiment cognitiu en les proves de funcionament prefrontal estarà inversament relacionat amb l'al·lel Val de la COMT, en el sentit que els portadors d'aquest al·lel obtindran rendiments inferiors en aquestes proves.

- 3) L'activació cerebral evocada per la tasca de l'*N-back* no es veurà directament afectada pel polimorfisme del DAT, donat el menor paper del transportador de la dopamina en el còrtex prefrontal.
- 4) El paper del polimorfisme del DAT en l'activació cerebral en la tasca de l'*N-back* es podrà posar de manifest com a conseqüència de la seva influència en l'activitat al nucli estriat, en el sentit que els portadors de l'al·lel de 9 repeticions mostraran una major activació cerebral.
- 5) El rendiment cognitiu en les proves de funcionament prefrontal estarà directament relacionat amb l'al·lel de 9 repeticions del DAT, en el sentit que els portadors d'aquest al·lel obtindran rendiments superiors als no portadors.

2.2. Estudi *Emocions*

2.2.1. Objectiu

L'objectiu del segon estudi va ser avaluar l'efecte dels polimorfismes Val^{108/158} Met de la COMT i 40 bp VNTR del DAT sobre l'activació cerebral relacionada amb el processament emocional. Per a això, els subjectes van ser sotmesos a una adquisició d'imatges de ressonància magnètica funcional mentre duïen a terme una tasca de processament d'expressions facials de les emocions de por i enuig. Es varen triar aquestes emocions perquè estudis de neuroimatge previs han mostrat que les expressions facials, i en especial les negatives, produeixen activació de l'amígdala, activació que es veu modulada pels nivells de dopamina (Hariri *et al.*, 2002a; Hariri *et al.*, 2002b; Drabant *et al.*, 2006).

2.2.2. Hipòtesis

Basant-nos en la implicació de la transmissió dopaminèrgica en la regulació dels circuits neurals que sustenten els processos afectius i en la literatura exposada a la introducció, ens plantejem les hipòtesis següents:

- 1) L'activació de l'amígdala en tasques de reconeixement d'emocions facials estarà més relacionada amb els al·lels del DAT que amb els de la COMT.
- 2) L'activació de l'amígdala no es veurà directament influïda pels al·lels de la COMT, donat el menor paper d'aquest enzim en l'eliminació de la dopamina en aquesta regió.
- 3) La COMT podrà influir en l'activació de l'amígdala de forma indirecta a través de les seves connexions amb l'estriat ventral i l'escorça prefrontal.

MATERIALS I MÈTODES

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1. Aspectes comuns als dos estudis

3.1.1. Subjectes

La mostra dels estudis va estar formada per subjectes sans, estudiants procedents de la Facultat de Psicologia de la Universitat de Barcelona.

Els estudis van ser aprovats pel Comitè d'Ètica de la Universitat de Barcelona. Tots els subjectes van signar el consentiment informat per participar en l'estudi i van ser recompensats econòmicament per la seva participació.

3.1.2. Screening

Els subjectes van ser avaluats mitjançant l'*Structured Clinical Interview for DSM-IV* (SCID) (First *et al.*, 1998), en la seva versió per a no pacients, per tal de descartar la presència de possibles psicopatologies. Les avaluacions

varen ser dutes a terme per dos avaluadors (JMS i MAJ), els quals desconeixien els genotips dels subjectes.

3.1.3. Estimació del quocient intel·lectual

La subescala *Vocabulari* del WAIS-III (*Wechsler Adult Intelligence Scale-Tercera Edició, The Psychological Corporation, San Antonio, TX, USA*), un test d'intel·ligència general, es va administrar com a estimador del nivell cognitiu dels subjectes. El nivell de vocabulari ha estat considerat una excel·lent indicació de l'habilitat mental general de subjectes sans i amb una correcta socialització (Lezak *et al.*, 2004). A més, la subescala *Vocabulari* del WAIS mostra elevades correlacions no només amb la intel·ligència verbal, sinó també amb l'habilitat intel·lectual global (Feingold, 1982).

3.1.4. Determinació dels genotips

Les determinacions dels genotips de la COMT i del DAT es van dur a terme a partir de mostres de 5 ml de sang perifèrica de cadascun dels participants en l'estudi. Les mostres van ser adquirides als Serveis Mèdics del Campus Mundet de la Universitat de Barcelona per personal sanitari qualificat. Les determinacions dels genotips es van dur a terme a la Unitat de Genòmica dels Serveis Científicotècnics de la Universitat de Barcelona.

3.1.4.1. Determinació del genotip de la COMT

Per obtenir el genotip de la COMT es va seguir el procediment descrit per Lachman *et al.* (1996). En primer lloc es va procedir a l'amplificació de la regió a estudiar mitjançant la tècnica de la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) i un volum de reacció de 12 µl que inclou 20 ng d'ADN genòmic, el tampó necessari per a la reacció, que inclou una unitat del l'enzim *Taq* polimerasa, i els cebadors específics per a l'amplificació d'aquest fragment

d'ADN: 5'-TCGTGGACGCCGTGATTCAGG-3' i 5'-AGGTCTGACAACGGGTC-AGGC-3'. Per a l'amplificació del fragment d'ADN es va sotmetre cadascuna de les mostres a una desnaturalització inicial de 3 minuts a 95 °C, seguida de 30 cicles de 55 °C durant 30 segons, 72 °C durant 1 minut i 95 °C durant 30 segons. Tot seguit, les mostres es van mantenir a 72 °C durant 10 minuts per tal que es produís l'extensió de les cadenes d'ADN. El fragment obtingut de 217 bp es va incubar tota la nit amb l'enzim de restricció Nla III. L'enzim reconeix dues dianes de restricció en l'al·lel COMT^L (Met-108), la qual cosa dóna lloc a 3 fragments d'ADN de 40, 81 i 96 bp, mentre que només reconeix una diana de restricció en l'al·lel COMT^H que dóna lloc a dos fragments d'ADN de 81 i 136 bp. Finalment es va procedir a la separació d'aquests fragments d'ADN mitjançant una electroforesi al 4% d'agarosa i a la seva visualització mitjançant una tinció de bromur d'etidi i l'ajuda d'un transil·luminador.

3.1.4.2. Determinació del genotip del DAT

La determinació del genotip del DAT es va dur a terme seguint el procediment descrit per Sano *et al.* (1993). Primerament es va procedir a l'amplificació de la regió a estudiar mitjançant la tècnica de la PCR i un volum de reacció de 12 µl que inclou 20 ng d'ADN genòmic, el tampó necessari per a la reacció, que inclou una unitat de l'enzim *Taq* polimerasa, i els cebadors específics per a l'amplificació d'aquest fragment d'ADN: 5'-TGTGGTG-TAGGGAACGGCCTGAG-3' i 5'-CTTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGC-3'. Per a l'amplificació del fragment d'ADN es va sotmetre cadascuna de les mostres a una desnaturalització inicial de 5 minuts a 94 °C, seguida de dos cicles de 66 °C i 64 °C per aconseguir respectivament la unió dels dos cebadors d'ADN. Tot seguit es van dur a terme 30 cicles de 94 °C durant 30 segons, 62 °C durant 45 segons i 72 °C durant 45 segons. Seguidament, les mostres es van mantenir a 72 °C durant 10 minuts per tal que es produís l'extensió de les cadenes d'ADN. Finalment, es va procedir a la separació dels fragments d'ADN mitjançant una electroforesi al 2% d'agarosa i a la seva visualització mitjançant la tinció amb bromur d'etidi i l'ajuda d'un transil·luminador. Els fragments resultants poden contenir 280 bp quan presenta 5 repeticions, 320 bp si presenta 6 repeticions,

360 bp si en presenta 7, 400 bp si en presenta 8, 440 bp si en presenta 9, 480 bp si en presenta 10, 520 bp si en presenta 11 i 600 bp si en presenta 13.

3.1.5. Característiques de l'adquisició d'imatges de ressonància magnètica

L'adquisició de les imatges de ressonància magnètica es va dur a terme en un escàner General Electric Signa d'1.5 tesles al Centre de Diagnòstic per la Imatge de l'Hospital Clínic de Barcelona.

3.1.5.1. Ressonància magnètica estructural

Les imatges de ressonància magnètica estructural potenciades en T1 es van adquirir mitjançant una seqüència 3D FSPGR (TR = 12 ms; TE = 5.2 ms; TI = 300 ms; 1 NEX; FOV 24 x 24 cm; matriu de 256 x 256). Els talls, d'1.5 mm de gruix, es van adquirir en orientació coronal.

3.1.5.2. Ressonància magnètica funcional

Durant l'adquisició de les imatges de ressonància magnètica funcional els subjectes es van situar en posició supina sobre la llitera de l'escàner, amb una bobina de crani situada al voltant del cap. Per tal d'evitar al màxim el moviment del cap durant l'adquisició de les imatges es va demanar als subjectes que es mantinguessin tan quiets com fos possible dins la màquina. A més, es van fer servir coixinets per tal de mantenir el cap fixat.

Les imatges de ressonància magnètica funcional es van adquirir amb una seqüència d'adquisició ecoplanar (EPI) eco de gradient potenciada en T2 sensible al contrast BOLD (TR = 2000 ms; TE = 35 ms; angle de declinació = 90°; FOV = 24 x 24 cm; matriu de 256 x 256). Cada volum constava de 20 talls axials de 5 mm de gruix i un espai entre talls d'1.5 mm.

Per cada subjecte es van adquirir dues sèries de ressonància magnètica funcional. Durant l'adquisició de cadascuna de les dues sèries els subjectes van dur a terme una tasca de memòria de treball i una tasca de reconeixement d'expressions facials d'emocions. Els subjectes rebien les instruccions per dur a terme les tasques durant els minuts previs a la ressonància i varen practicar breument amb versions reduïdes de les tasques.

Per a la presentació dels estímuls es va fer servir el programa *Presentation*, versió 9.13, per a *Windows*. Els estímuls es presentaven, mitjançant un projector, sobre una pantalla situada als peus del subjecte. Els subjectes podien veure la pantalla a través d'un joc de miralls situats a la bobina de crani.

3.1.6. Processament i anàlisi estadística de les imatges

Primerament, els arxius corresponents a cada tall de l'adquisició van ser convertits en volums en format *Analyze 7.5* (Intel) mitjançant el programa *MRicro v1.39 Build 5* (software desenvolupat per Chris Rorden; <http://www.psychology.nottingham.ac.uk/staff/cr1/mricro.html>).

Les imatges de ressonància magnètica es van processar mitjançant el programa *SPM2* (*Statistical Parametric Mapping, The Wellcome Department of Imaging Neuroscience, Institute of Neurology, University College London, UK*) funcionant sobre *MATLAB 6.5* (*MathWorks, Natick, MA*). El primer pas va ser la correcció dels moviments involuntaris del subjecte dins la màquina. Per fer-ho, es van realinear els volums de les sèries d'imatges funcionals respecte al primer volum de cada sèrie. A més es va fer un remostreig de les imatges i es va crear una imatge mitjana, la qual es faria servir posteriorment en el procés de normalització. El realineament emprà càlculs que minimitzen la diferència de quadrats entre les dues imatges comparades que permeten corregir els moviments en tres translacions i tres rotacions en els eixos cartesianes. Tot seguit es van normalitzar les imatges al model EPI de l'*SPM2*. Aquest pas

implica la transformació de la imatge a un espai estàndard, el del *Montreal Neurological Institute* (MNI). Es va fer servir la imatge mitjana obtinguda durant el procés de correcció del moviment per tal de calcular els paràmetres de normalització, els quals es van aplicar a cadascuna de les imatges de ressonància magnètica funcional realineades. Les imatges realineades i normalitzades es van suavitzar amb un nucli gaussià tridimensional isotròpic de $\text{FWHM} = 10 \text{ mm}$. Aquest pas permet incrementar la relació entre senyal i soroll de les dades (Turner *et al.*, 1998), a la vegada que aproxima les dades a una distribució normal, cosa que incrementa la validesa de les proves estadístiques que es duran a terme posteriorment. Un cop preprocessades les imatges es va procedir a l'especificació de la matriu del disseny i posterior estimació del model. Les dues condicions es van definir segons una funció de base del tipus *box-car* convolucionada amb la resposta hemodinàmica. Després de l'estimació del disseny es varen obtenir els contrastos *activació > control* per cada subjecte. Mitjançant la prova t d'Student, aquestes imatges proporcionen informació sobre les àrees cerebrals significativament activades durant la condició d'activació en comparació a la condició de control. Aquestes imatges es van fer servir per a les anàlisis grupals.

Mitjançant l'opció *one-sample T test* de l'*SPM2* es va obtenir el patró d'activació grupal generat per cada tasca de ressonància magnètica funcional. El llindar de significació estadística a nivell de *voxel* per a l'obtenció del patró d'activació va ser de $P < 0.001$ no corregit per comparacions múltiples. El patró d'activació es va fer servir per restringir l'anàlisi grupal a aquelles àrees activades per la tasca.

3.2. Aspectes específics de cada estudi

3.2.1. Estudi *N-back*

3.2.1.1. Subjectes

La mostra va consistir en 75 subjectes (45 dones; rang d'edat 18-22 anys, mitjana 19.6, desviació estàndard 1.7), tots amb una puntuació mínima en l'*N-back* superior al 75% de respostes correctes, la qual cosa equival a un mínim de 18 dianes detectades d'un total de 24. La distribució dels genotips de la COMT va ser 26 Val/Val, 32 Val/met i 17 Met/Met. Pel que fa al DAT, la distribució va ser 12 9/9, 41 9/10 i 22 10/10.

3.2.1.2. Exploració neuropsicològica

Per a l'exploració de les funcions prefrontals relacionades amb la transmissió dopaminèrgica es van escollir dues proves: el *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST) i el *Continuous Performance Test* (CPT). S'ha demostrat que l'execució en aquestes proves es veu alterada en malalties neurològiques i psiquiàtriques que impliquen el sistema dopaminèrgic, com ara la malaltia de Parkinson (Paolo *et al.*, 1996; Witt *et al.*, 2006), l'esquizofrènia (Egan *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002) i el dèficit d'atenció amb hiperactivitat (Epstein *et al.*, 2003). Estudis previs sobre els efectes de gens relacionats amb les funcions dopaminèrgiques han demostrat la sensibilitat del WCST, de l'*N-back* i del CPT (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006; Kieling *et al.*, 2006). Els subjectes van ser explorats en una única sessió i les persones encarregades de l'exploració (MAJ i XC) desconeixien els genotips dels participants.

3.2.1.2.1. *Continuous Performance Test*

El *Conners' CPT II*, versió 5, per a *Windows* (Conners, 2004) és un test administrat per ordinador per avaluar l'atenció sostinguda. Els estímuls que es fan servir són lletres majúscules de color blanc sobre un fons negre. Durant el CPT els subjectes han de respondre prement la barra d'espai del teclat o el botó dret del ratolí sempre que aparegui en pantalla qualsevol lletra que no sigui la "X". Es demana als subjectes que responguin tan ràpidament com puguin i de la manera més acurada possible, és a dir, prement sempre que la lletra no sigui la "X" i no prement sempre que la lletra sigui la "X". Els intervals entre estímuls són d'1, 2 i 4 segons, i el temps de durada de cada estímulo és de 250 ms. El test consta de sis blocs amb tres subblocs de 20 estímuls cadascun. L'ordre en què es presenten els diferents intervals entre estímuls varia entre els blocs. El temps de durada del test és de 14 minuts.

3.2.1.2.2. *Wisconsin Card Sorting Test*

Per a l'exploració de les funcions executives es va fer servir el *Wisconsin Card Sorting Test* en la versió de 64 cartes. Els WCST és un test de funcions executives que implica l'escorça prefrontal dorsolateral (Monchi *et al.*, 2001; Lie *et al.*, 2006). Els estímuls que es fan servir en el WCST són cartes on hi ha dibuixades figures geomètriques: triangles, estrelles, creus i cercles. Cada carta conté entre una i quatre figures, totes elles de la mateixa forma i color. Els subjectes han de classificar els estímuls tenint en compte quatre cartes de referència, atenent a tres possibles criteris: color, forma i número d'objectes. Per cada classificació que realitza, el subjecte rep feedback indicant si la classificació ha estat correcta o incorrecta. Un cop el subjecte aconsegueix deu classificacions correctes consecutives es canvia, sense avisar-lo, el criteri de classificació. El nombre d'errors perseveratius ha estat la variable més freqüentment emprada, donat que es considera que és la que millor reflecteix la funció prefrontal (Egan *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002; Malhotra *et al.*, 2002; Rosa *et al.*, 2004).

3.2.1.3. Tasca de ressonància magnètica funcional

Es va adquirir una sèrie d'imatges de ressonància magnètica funcional mentre als subjectes se'ls administrava una tasca de memòria de treball. La tasca que es va utilitzar va ser una versió de l'*N-back* amb dues condicions: control i activació. Cada condició constava de quatre blocs de 52 segons cadascun. La tasca començava amb la condició de control (*0-back*) en la que es demanava als subjectes que responguessin cada cop que el número 0 aparegués en pantalla. Durant la condició d'activació (*2-back*) els subjectes havien de respondre cada cop que el número de la pantalla fos el mateix que el que havia aparegut dues posicions abans. Els estímuls emprats eren números de color blanc d'un dígit, entre el 0 i el 9 en la condició de control i entre l'1 i el 9 en la condició d'activació, presentats sobre una pantalla negra. Els estímuls es presentaven durant 500 ms i anaven seguits de 1500 ms fins a la presentació del següent estímulo. En la tasca hi havia 24 dianes, 6 en cada bloc.

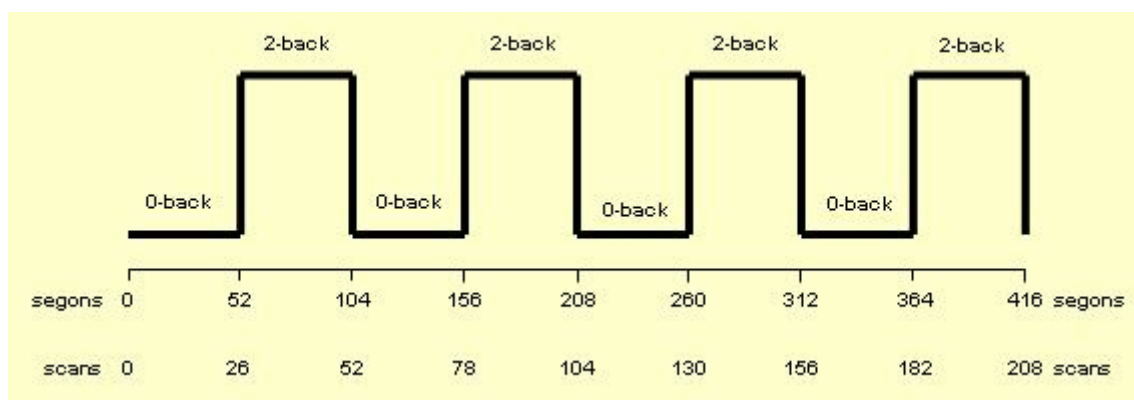


Figura 7. Esquema de la tasca *N-back*.

La durada del protocol d'adquisició era de 7 minuts i 4 segons, temps en el qual s'obtenien 212 volums complets del cervell de 20 talls axials cada volum (**Figura 7**). Les dades obtingudes durant els 8 primers segons addicionals (4 volums) corresponents al temps d'estabilització del senyal van ser exclosos de

l'anàlisi. Les respostes dels subjectes eren enregistrades a través d'una botonera dissenyada per poder funcionar sota camps magnètics. A l'inici de cada bloc s'informava als subjectes, mitjançant instruccions escrites a la pantalla de projecció, de la condició que anava a començar.

3.2.1.4. Anàlisi estadística de les imatges

Per avaluar l'efecte individual i additiu dels genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació durant l'*N-back* es va fer servir un model de regressió múltiple en el que es van introduir com a variables predictores el genotip de la COMT i del DAT com el número d'al·lels Val i de 9 repeticions, respectivament (Met/Met = 0; Val/Met = 1, Met/Met = 2; 10/10 = 0; 9/10 = 1; 9/9 = 2).

Donat que s'esperava trobar les diferències en àrees prefrontals dorsolaterals, es va establir un llindar estadístic a nivell de *voxel* de 0.005 no corregit per comparacions múltiples i una mida mínima del clúster de 15 *voxels*, amb l'aplicació addicional d'una *small volume correction* mitjançant una esfera de 15 mm de radi i fent servir una $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

3.2.1.5. Anàlisi estadística de les variables conductuals

Les anàlisis estadístiques de les dades conductuals es van dur a terme amb el programa SPSS, versió 11.0.1, per a Windows. Es van analitzar les variables temps de reacció, errors de comissió, errors d'omissió i d' del CPT i la variable errors perseveratius del WCST. Es van fer servir anàlisis de regressió múltiple amb el mètode de passes successives amb el genotip de la COMT (nombre d'al·lels Val) i del DAT (nombre d'al·lels de 9 repeticions) com a variables predictores. Es va establir un llindar de significació estadística de $P < 0.05$ bilateral.

3.2.2. Estudi *Emocions*

3.2.2.1. Subjectes

Per a aquest estudi es va incrementar la mostra fins arribar a 100 subjectes (57 dones; rang d'edat 18-35 anys, mitjana 20.4, desviació estàndard 3.4). La distribució dels genotips de la COMT va ser 30 Val/Val, 48 Val/Met i 22 Met/Met. Pel que fa al DAT, la distribució va ser 15 9/9, 51 9/10 i 28 10/10. Sis subjectes tenien un genotip del DAT diferent de 9/9, 9/10 o 10/10 i no van ser, per tant, inclosos en l'anàlisi dels efectes del DAT sobre l'activació cerebral.

3.2.2.2. Tasca de ressonància magnètica funcional

Una altra sèrie d'imatges de ressonància magnètica funcional es va adquirir mentre el subjectes realitzaven una tasca de reconeixement d'expressions facials d'emocions (Hariri *et al.*, 2002b). La tasca començava

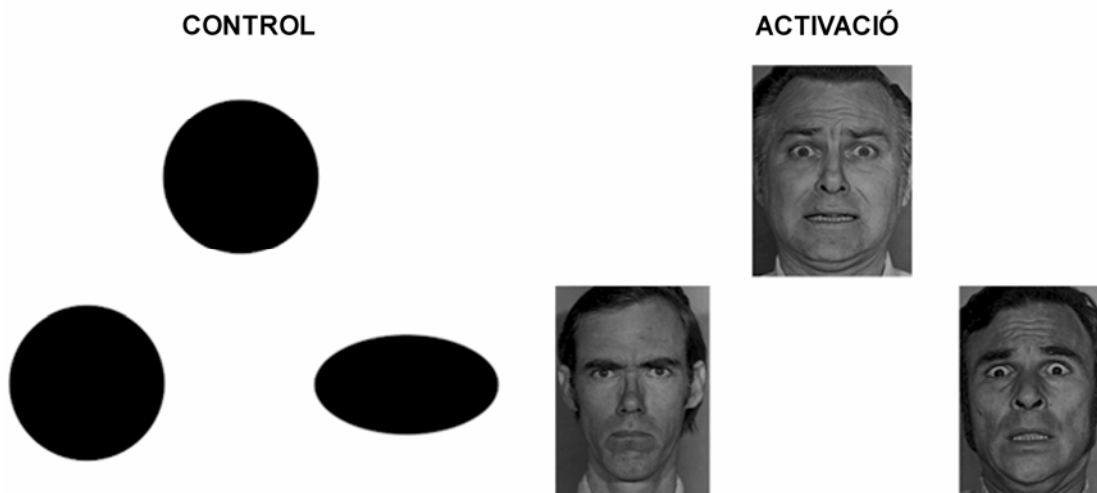


Figura 8. Estímuls emprats en la tasca de processament d'expressions facials d'emocions.

amb la condició de control, en la que els subjectes havien d'indicar quina de les dues figures geomètriques presentades a la part inferior de la pantalla era igual a la que es mostrava com a referència a la part superior (**Figura 8**). En la condició d'activació els estímuls eren cares extretes del *Facial Expressions of Emotions – Stimuli and Tests* (Ekman i Friesen, 1976) disposades de la mateixa manera. En aquest cas els subjectes havien de decidir quina de les dues cares presentades a la part inferior de la pantalla expressava la mateixa emoció que la cara de referència, presentada a la part superior de la pantalla. Les dues cares que conformaven les alternatives de resposta eren del mateix sexe que la cara de referència. La meitat dels estímuls consistien en cares d'homes i l'altra meitat, de dones, presentats aleatòriament. Les expressions facials emprades per aquesta prova van ser les de por i enuig. La tasca constava de quatre blocs de control i quatre blocs d'activació, tots ells de 36 segons i amb 6 estímuls a cada bloc. Els estímuls es mostraven en pantalla durant 5 segons, seguits de 0.5 segons fins a la presentació del següent estímulo. El protocol durava 4 minuts i 56 segons, temps en el que s'adquirien 148 volums complets, dels quals els quatre primers eren exclosos de l'anàlisi, donat que corresponien als 8 segons addicionals necessaris per a l'estabilització del senyal. A l'inici de cada bloc s'informava als subjectes, mitjançant instruccions escrites a la pantalla de projecció, de la condició que estava a punt de començar (**Figura 9**).

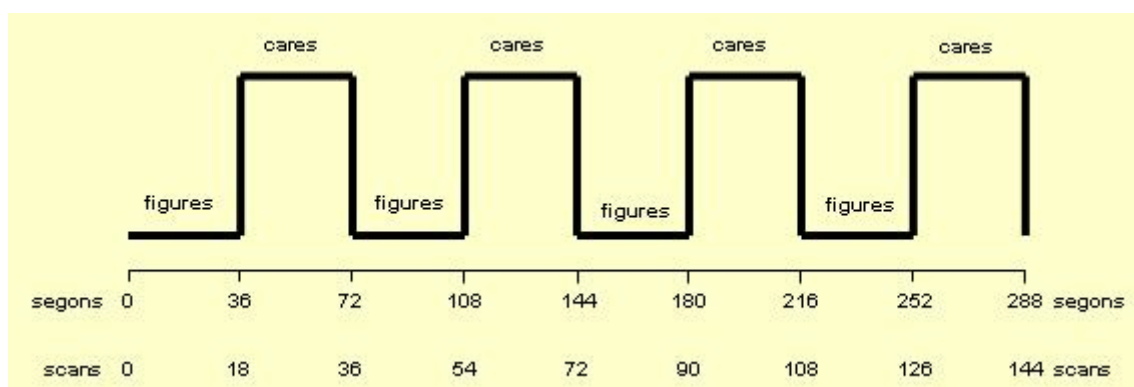


Figura 9. Esquema de la tasca Emocions.

3.2.2.3. Anàlisi estadística de les imatges

Per avaluar l'efecte dels genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació durant la tasca de reconeixement d'expressions facials d'emocions es van fer servir proves d'anàlisi de la variància amb el genotip de la COMT i del DAT com a factors. Tan per a la COMT com per al DAT els subjectes s'agrupaven en tres possibles grups. Met/Met, Val/Met i Val/Val per al genotip de la COMT i 9/9, 9/10 i 10/10 per al genotip del DAT.

Donat que s'esperava trobar diferències a l'amígdala, es va establir un llindar de significació a nivell de *voxel* de 0.005 no corregit per comparacions múltiples per a l'obtenció dels efectes principals per a cada genotip.

RESULTATS

4. RESULTATS

4.1. Resultats de l'estudi *N-back*

Les anàlisis de regressió no van mostrar diferències entres els subjectes en funció dels seus genotips de la COMT i del DAT en termes de rendiment en la tasca de l'*N-back*, gènere, edat i puntuació en la prova de vocabulari (F més alta = 1.3, P més baixa 0.271). El rang de les puntuacions en la subescala de vocabulari del WAIS era de 38 a 57, amb una mitjana de 47.9 i una desviació estàndard de 4.24, la qual cosa indica que no existia un efecte sostre. La **taula 1** mostra la mitjana i la desviació estàndard de les variables demogràfiques i cognitives de la mostra, així com el nombre de subjectes en cada grup.

4.1.1. Resultats conductuals

Les proves de regressió múltiple van mostrar una relació entre el genotip de la COMT i l'execució en el WCST, mentre que el genotip del DAT no va entrar en el model. Concretament, el nombre d'al·lels Val estava relacionat amb un pitjor rendiment en aquest test, reflectit pel major nombre d'errors

perseveratius ($F = 4.9$; $P = 0.03$). El genotip de la COMT va explicar un 6.3% de la variància en l'execució.

Taula 1. Mitjana i desviació estàndard (entre parèntesis) de les variables demogràfiques i cognitives de la mostra.

	Met/Met 10/10	Met/Met 9/10	Val/Met 10/10	Val/Met 9/10	Val/Met 9/9	Val/Val 10/10	Val/Val 9/10	Val/Val 9/9
Dones/homes	4/2	6/5	5/6	7/7	6/1	3/2	9/7	5/-
Edat	19.2 (±1.47)	20.8 (±1.47)	19.0 (±1.09)	19.1 (±1.98)	20.0 (±1.73)	19.4 (±2.07)	19.8 (±1.91)	18.4 (±0.89)
%RC N-back	94.5 (±7.76)	97.3 (±3.37)	96.2 (±6.31)	92.9 (±8.24)	97.6 (±3.28)	96.7 (±5.43)	94.3 (±4.27)	96.7 (±3.49)
Vocabulari	45.8 (±3.87)	47.5 (±4.97)	47.6 (±2.84)	47.6 (±4.16)	47.4 (±5.19)	51.4 (±2.97)	48.8 (±4.34)	46.8 (±3.56)
EP WCST	6.5 (±2.88)	7.6 (±3.59)	7.2 (±3.46)	7.9 (±3.11)	6.4 (±1.81)	13.0 (±8.54)	9.6 (±6.03)	8.4 (±5.64)
d' CPT	.917 (±.232)	.827 (±.597)	.773 (±.297)	.671 (±.281)	1.014 (±.195)	.460 (±.152)	.669 (±.311)	.880 (±.377)
EO CPT	.2 (±.41)	1.5 (±2.73)	.6 (±.92)	1.6 (±2.87)	1.1 (±1.22)	2.8 (±6.26)	1.1 (±1.09)	.4 (±.55)
EC CPT	8.7 (±4.23)	11.3 (±6.83)	11.4 (±5.54)	11.4 (±4.42)	7.1 (±1.77)	22.0 (±10.12)	11.4 (±3.39)	10.0 (±6.33)
TR CPT	320.5 (±36.58)	335.0 (±64.83)	317.5 (±26.67)	342.4 (±47.13)	376.5 (±47.43)	304.7 (±52.65)	342.2 (±49.20)	375.5 (±71.80)

RC, respostes correctes; EP, errors perseveratius; EO, errors d'omissió; EC, errors de comissió; TR, temps de reacció; CPT, *Continuous Performance Test*; WCST, *Wisconsin Card Sorting Test*.

Quan es va introduir el temps de reacció del CPT com a variable dependent, només el genotip del DAT va entrar en el model estadístic ($F = 12.3$; $P = 0.001$) i va explicar un 14.4% de la variància. Els subjectes homozigots per a l'al·lel de 9 repeticions van ser els que van mostrar els temps de reacció més elevats, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions van mostrar els temps de reacció més baixos.

Pel que fa al nombre d'errors de comissió en el CPT, tant el genotip de la COMT com el del DAT van entrar en el model ($F = 5.1$; $P = 0.009$) i van explicar un 12.4% de la variància. El nombre d'al·lels Val de la COMT i el nombre d'al·lels de 10 repeticions del DAT estaven relacionats amb un major nombre d'errors de comissió.

Donat que per la variable errors de comissió tant el genotip de la COMT com el del DAT entraven en el model, es van avaluar possibles efectes d'interacció. L'anàlisi de la variància va mostrar un efecte d'interacció entre els genotips de la COMT i del DAT sobre els errors de comissió. L'origen d'aquest efecte es trobava en els subjectes homozigots per als al·lels Val i de 9 repeticions, els quals mostraven el nombre més elevat d'errors de comissió ($F = 4.65$; $P = 0.005$).

Les anàlisis de les variables errors d'omissió i d' del CPT no van mostrar cap relació amb els genotips de la COMT i del DAT.

4.1.2. Patró d'activació

L'estudi del patró d'activació del *2-back* va mostrar activació en les àrees que formen la xarxa cortical que sustenta la memòria de treball (Callicott *et al.*, 1999; Gazzaley *et al.*, 2004; Bertolino *et al.*, 2006). Aquestes àrees inclouen les escorces prefrontal dorsolateral, cingulada i parietal, el tàlem, el nucli caudat i el putamen (**Figura 10**; **Taula 2**).

Taula 2. Àrees cerebrals activades durant la condició *2-back* en comparació amb la condició *0-back*.

Regió	BA	T	Coordenades MNI
Lòbul parietal inferior D	40	23.3	42 -44 46
Lòbul parietal superior D/E	7	20.65/21.95	32 -64 50/-38 -52 50
Circumvolució frontal mitja D/E	6	22.73/16.35	30 -2 56/-24 -2 60
Circumvolució frontal mitja D/E	46/9	20.71/15.95	42 32 32/-46 24 36

Circumvolució frontal mitja D/E	10	14.57/14.73	36 52 22/-36 50 14
Circumvolució frontal superior D	8	17.38	6 22 48
Circumvolució frontal inferior D/E	47	17.44/15.45	34 24 0/-32 22 0
Circumvolució frontal inferior D	44	12.99	52 10 30
Circumvolució frontal medial E	6/8	18.37	-2 12 54
Circumvolució temporal mitja D	21	14.72	58 -38 -16
Circumvolució temporal inferior D/E	37	14.40/10.57	58 -44 -18/30 -64 -34
Cerebel D/E		14.25/14.09	30 -64 -34/-10 -74 -28
Tàlem D/E		11.25/11.02	6 -28 12/-12 -10 6
Putamen D/E		10.84/8.63	14 -4 6/-14 2 6
Caudat D/E		9.05/9.81	16 4 20/-18 2 22

Nivell de significació $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

D, dreta; E, esquerra; BA, àrea de Brodmann; MNI, *Montreal Neurological Institute*.

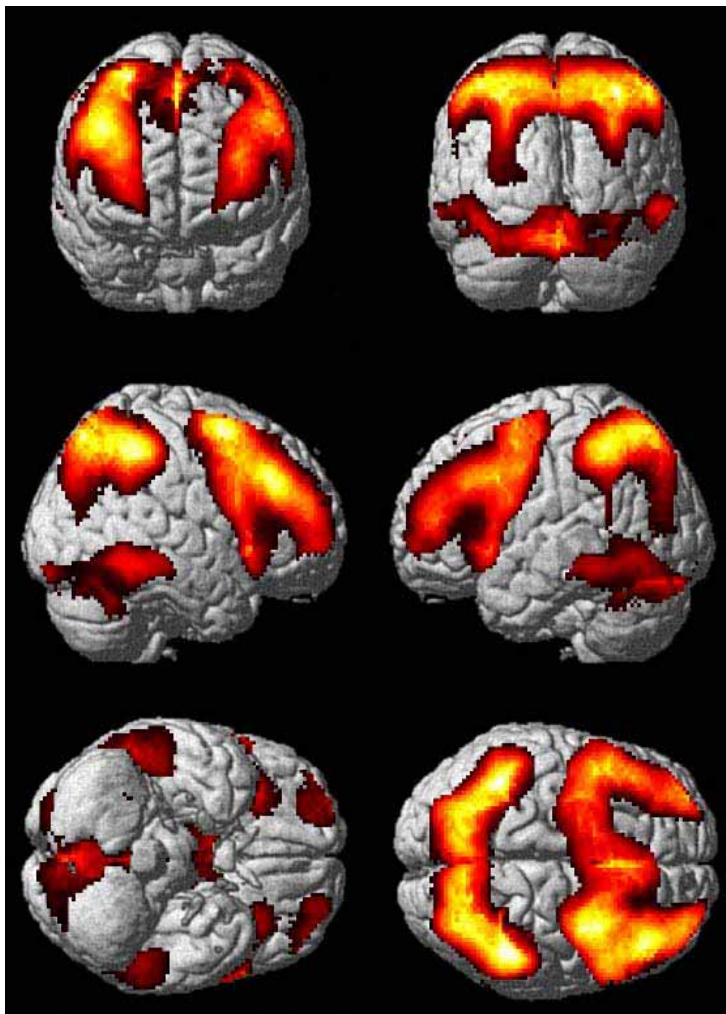


Figura 10. Activació cerebral durant la tasca de l'*N*-back. Àrees activades durant la condició 2-back respecte la condició 0-back. Les activacions es mostren sobre una reconstrucció en 3 dimensions d'un cervell humà proporcionat pel programa SPM2. De dalt a baix, la columna de l'esquerra mostra les vistes anterior, lateral dreta i inferior del cervell. La columna de la dreta mostra les vistes posterior, lateral esquerra i superior. $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

4.1.3. Regressió

Les proves de regressió múltiple amb els genotips de la COMT i del DAT com a predictors no van mostrar diferències per cada genotip independentment. Tanmateix, es va observar un efecte additiu dels dos genotips. Les anàlisis van mostrar una relació linear entre els genotips de la COMT i del DAT i l'activació cerebral a la circumvolució frontal mitja (coordenades MNI -30, 46, 40; àrea de Brodmann [BA] 9; mida del clúster = 89 voxels; $t = 3.50$; $P < 0.001$ sense correcció per comparacions múltiples). Aquest model va explicar un 14.3% de la variància de la resposta BOLD.

Tenint en compte la funció cerebral objecte d'estudi, una anàlisi que compregui la totalitat del cervell es pot considerar massa conservadora. Per això es va aplicar una *small volume correction* per tal de reduir el número de comparacions. La correcció es va dur a terme mitjançant la col·locació d'una esfera de 15 mm de radi a la regió prefrontal dorsolateral corresponent a la BA 9, en base als resultats de l'anàlisi de tot el cervell i a estudis previs que han demostrat tant la implicació d'aquesta àrea cerebral en la memòria de treball (Callicott *et al.*, 1999; Callicott *et al.*, 2003) com l'efecte modulador que la COMT i el DAT exerceixen sobre l'activitat d'aquesta regió (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006). L'aplicació de l'*small volume correction* centrant l'esfera a la coordenada MNI -30, 46, 40 va mostrar resultats significatius corregits per comparacions múltiples (coordenades MNI -30, 46, 40; BA 9; mida del clúster = 64 voxels; $t = 3.50$; $P = 0.03$ amb correcció FWE per comparacions múltiples) (**Figura 11**). A més, quan l'esfera es va centrar a la coordenada MNI -38, 38, 30 en base a resultats previs que han trobat activació diferencial d'aquesta àrea durant la realització de la tasca *2-back* (Callicott *et al.*, 2003) l'activació va romandre significativa (coordenades MNI -42, 38, 36; BA 9; mida del clúster = 72 voxels; $t = 3.41$; $P = 0.037$ amb correcció FWE per comparacions múltiples).

Amb la introducció del terme de la interacció (COMT x DAT), considerat una mesura de no additivitat dels efectes principals, els resultats no van variar, cosa que suggereix un efecte additiu dels dos genotips (coordenades MNI -30,

46, 40; BA 9; mida del clúster = 61 voxels; $t = 3.45$; $P = 0.014$ amb correcció FWE per comparacions múltiples).

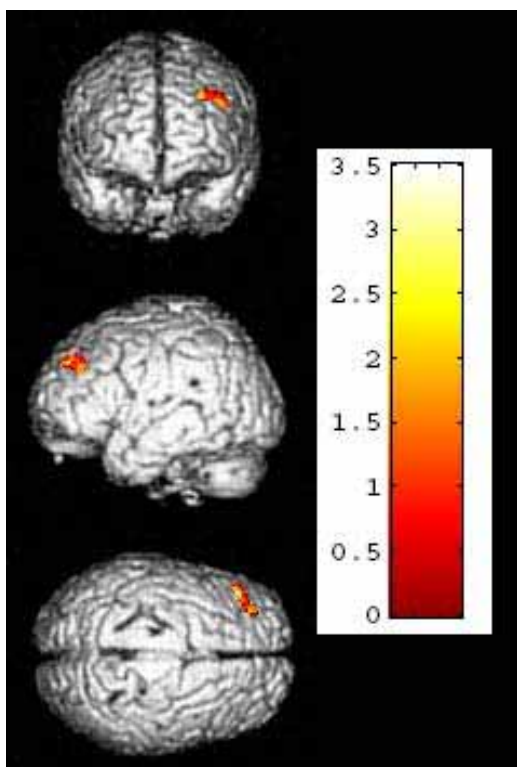


Figura 11. Efectes conjunts del genotip de la COMT i del DAT sobre l'activació cerebral durant la tasca de memòria de treball N-back. L'al·lel Val de la COMT i el de 9 repeticions del DAT s'associen a un major senyal BOLD a la BA 9. De dalt a baix, vistes anterior, lateral esquerra i superior del cervell. La barra de colors mostra els valors de l'estadístic t .

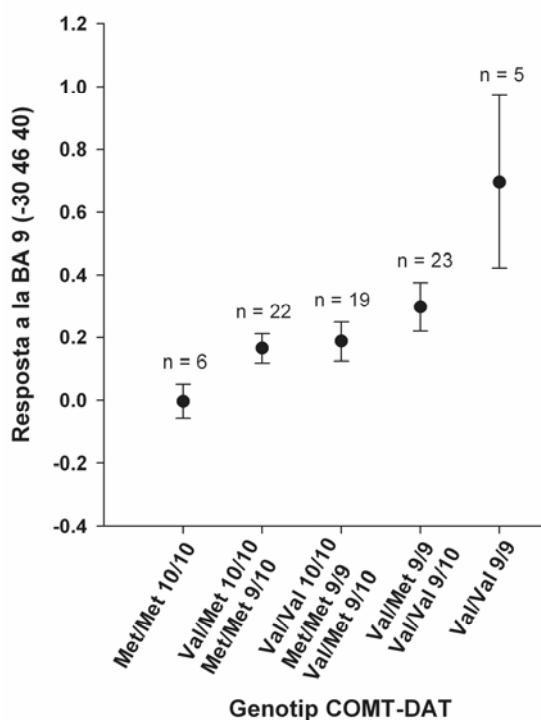


Figura 12. Resposta BOLD a la BA 9. Les dades es varen obtenir d'una anàlisi addicional de regressió simple introduint com a regressor el nombre d'al·lels que hipotèticament són "beneficiosos" (els al·lels Met més els de 10 repeticions; mínim 0 i màxim 4 al·lels). Aquesta anàlisi va proporcionar resultats pràcticament idèntics als obtinguts mitjançant l'anàlisi de regressió múltiple. Els punts representen les mitjanes i les barres, els errors estàndard. El número de subjectes de cada grup es mostra a sobre de cada mitjana.

4.2. Resultats de l'estudi *Emocions*

La prova d'anàlisi de la variància amb el genotip de la COMT com a factor no va mostrar diferències significatives entre els tres grups pel que fa a edat, rendiment en la tasca de ressonància magnètica funcional ni pel que fa a la puntuació obtinguda en la subescala *Vocabulari* del WAIS (F més alta = 1.77, P més baixa = 0.175). La prova de txi-quadrat tampoc va mostrar diferències pel que fa a la distribució d'homes i dones en els tres grups ($\chi^2 = 0.31$, P = 0.858). La **taula 3** mostra la mitjana i la desviació estàndard de les variables demogràfiques i cognitives de la mostra, així com el nombre de subjectes en cada grup.

Taula 3. Mitjanes i desviacions estàndard (entre parèntesis) de les variables demogràfiques i cognitives de la mostra.

	COMT			DAT		
	Met/Met	Val/Met	Val/Val	9/9	9/10	10/10
Dones/homes	13/9	26/22	18/12	14/1	26/25	15/13
Edat	21.1 (±3.79)	20.6 (±3.89)	19.4 (±1.79)	19.3 (±1.49)	20.8 (±3.9)	20.0 (±3.37)
RC emocions	21.4 (±2.41)	20.5 (±3.44)	21.4 (±2.8)	22.0 (±2.0)	21.1 (±2.96)	20.1 (±3.65)
Vocabulari	47.9 (±4.17)	47.9 (±4.54)	49.0 (±3.84)	46.8 (±4.36)	48.6 (±4.52)	48.3 (±3.63)

RC, respostes correctes

Pel que fa al DAT, tampoc es van observar diferències entre els tres grups pel que fa a l'edat, al rendiment en la tasca ni en la puntuació en la subescala de vocabulari del WAIS (F més alta = 1.27, P més baixa = 0.289). En aquest cas sí que es van observar diferències pel que fa a la distribució d'homes i dones en els tres grups ($\chi^2 = 10.34$, P = 0.016).

Novament, el rang de puntuacions observat en la subescala *Vocabulari* del WAIS (entre 38 i 61) indica que no existia un efecte sostre en aquesta mesura.

4.2.1. Patró d'activació

El patró d'activació obtingut per a tot el grup va revelar activació en les àrees implicades en el processament de les emocions, incloent àrees occipitals (BA 18/19/37), frontals (BA 6/8/9/44/46) i parietals (BA 7) bilateralment, l'ínsula anterior bilateralment i l'amígdala dreta (**Figura 13; Taula 4**).

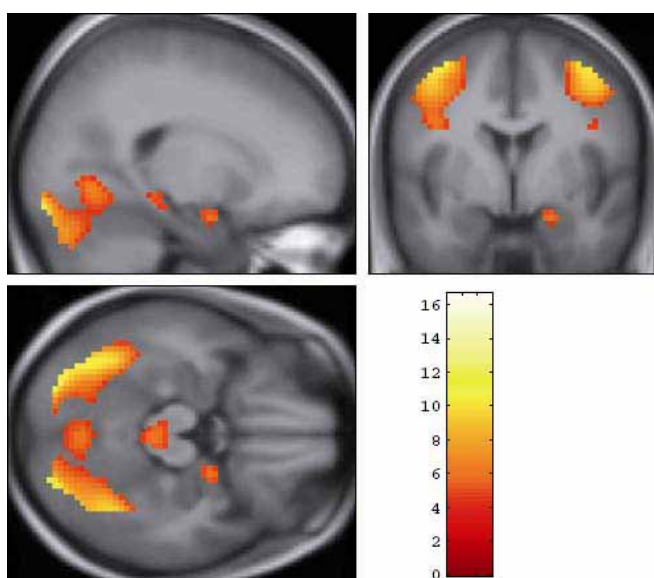


Figura 13. Activació durant el processament d'expressions facials d'emocions. L'activació es mostra sobre els plans sagital, coronal i axial de la imatge mitjana de tots els subjectes. La barra de colors indica els valors de l'estadístic t . $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

Taula 4. Regions cerebrals activades durant el processament d'expressions facials d'emocions.

Regió	BA	T	Coordenades MNI
Circumvolució occipital D/E	18	21.66/19.00	30 -92 -6/-30 -92 -10
Circumvolució fusiforme D/E	37	19.27/17.67	40 -52 -22/-40 -60 -22
Circumvolució frontal inferior D/E	44	18.32/20.40	42 10 32/-44 16 30
Circumvolució frontal mitja D	46	18.26	50 24 26

Circumvolució frontal mitja D/E	6	12.28/11.74	38 -4 52/-42 -4 56
Circumvolució frontal superior E	6	11.53	-38 -6 64
Circumvolució frontal medial	6	14.87	2 16 54
Lòbul parietal inferior D/E	7	12.46/13.70	32 -62 48/-28 -62 46
Ínsula anterior D/E		10.63/8.64	32 26 2/-32 22 0
Amígdala D		5.79	20 -2 -12
Tàlem D/E		6.06/6.12	8 -12 4/-6 -14 6

Nivell de significació $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

D, dreta; E, esquerra; BA, àrea de Brodmann; MNI, *Montreal Neurological Institute*.

4.2.2. Anàlisi de la variància

Les proves de l'anàlisi de la variància varen mostrar un efecte principal del genotip de la COMT en l'activació de l'amígdala dreta (coordenades MNI 21, 0, -18; mida del clúster = 5 voxels; $F = 6.25$; $P = 0.003$, sense correcció per comparacions múltiples) (**Figura 14**). El genotip de la COMT explicava un 11.43% de la variància en la resposta BOLD.

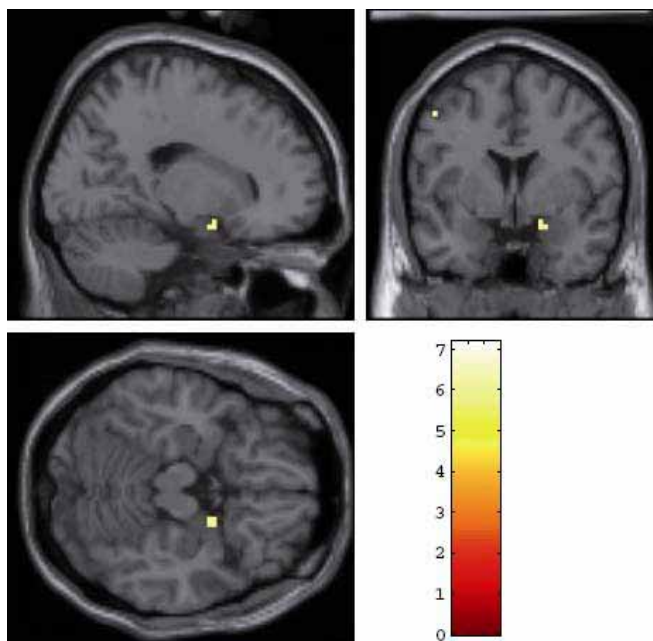


Figura 14. Efecte principal del genotip de la COMT sobre l'activació cerebral durant el processament d'expressions facials d'emocions. L'efecte es mostra sobre els plans sagital, coronal i axial de la imatge T1 proporcionada pel software SPM2. La barra de colors mostra el valor de l'estadístic t . $P < 0.005$ sense correcció per comparacions múltiples.

L'aplicació d'una prova t d'Student per a mostres independents va revelar una major activació de l'amígdala dreta en els subjectes homozigots per a

l'al·lel Met en relació als portadors de l'al·lel Val. Donat que el patró d'activació relatiu al processament d'expressions facials només mostrava activació de l'amígdala dreta i donat que l'efecte del genotip sobre l'activació relacionada amb la tasca s'havia observat en aquesta estructura, les nostres anàlisis es van restringir a aquesta regió mitjançant l'aplicació d'una regió d'interès d'aquesta estructura, procediment que es va dur a terme amb el programa *WFU PickAtlas* per a *SPM*, versió 1.02 (Joseph Maldjian, *Functional MRI Laboratory, Wake Forest University School of Medicine*) (coordenades MNI 18, 3, -15; mida del clúster = 2 voxels; $t = 2.59$; $P = 0.035$ amb correcció FWE per comparacions múltiples) (**Figura 15**).

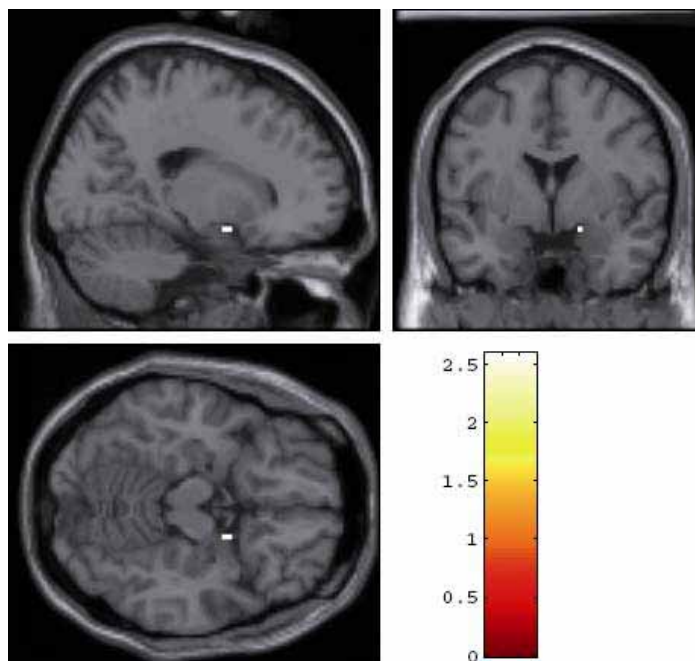


Figura 15. Major activació a l'amígdala dreta en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met de la COMT en relació als portadors de l'al·lel Val. Les diferències es mostren sobre els plans sagital, coronal i axial de la imatge T1 proporcionada pel software SPM2. La barra de colors mostra els valors de l'estadístic t . $P < 0.05$ amb correcció FWE per comparacions múltiples.

DISCUSSIÓ

5. DISCUSSIÓ

5.1. Discussió de l'estudi *N-back*

Els nostres resultats posen de manifest un efecte conjunt dels genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació cerebral. Individualment, ni el genotip de la COMT ni el del DAT van contribuir de manera significativa al model de regressió. Tanmateix, l'anàlisi dels dos polimorfismes junts va posar de manifest l'existència d'un efecte additiu. Concretament, aquesta anàlisi va mostrar una relació significativa entre els genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació cerebral a l'àrea BA 9 durant la realització de la tasca *N-back*. Donat que tots els subjectes van mostrar nivells d'execució en la tasca similars els resultats es poden interpretar com diferències en l'eficiència fisiològica, que vindrien donades per les diferències en els nivells de disponibilitat dopaminèrgica a nivell sinàptic. Estudis previs han descrit un efecte de la COMT sobre l'activació cerebral, mesurada mitjançant RMf, durant la realització d'una tasca de memòria de treball (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006). Egan *et al.* (2001) van trobar un efecte del genotip de la COMT sobre l'activació de les escorces prefrontal dorsolateral i cingulada. En el seu estudi els subjectes homozigots per a l'al·lel Val eren els menys eficients, és a dir, per obtenir un mateix rendiment en la tasca de l'*N-back* mostraven majors nivells

d'activació. El grup d'homozigots per a l'al·lel Met va ser el que va mostrar els nivells menors d'activació cerebral i, per tant, els majors nivells d'eficiència fisiològica de les àrees prefrontals dorsolateral i cingulada. El grup d'heterozigots mostrava uns nivells d'activació cerebral a mig camí entre els dos grups d'homozigots. En un estudi dut a terme recentment en subjectes sans, Bertolino *et al.* (2006) van trobar un efecte tant del genotip de la COMT com del DAT sobre l'activació cerebral durant la realització de l'N-back. Els autors van trobar un efecte del genotip de la COMT i del DAT separatament sobre l'activació cerebral, així com un efecte additiu de tots dos genotips. Els subjectes homozigots per a l'al·lel Met de la COMT i de 10 repeticions del DAT van mostrar una resposta cerebral més focalitzada, seguits dels subjectes heterozigots i, finalment, dels homozigots per als al·lells Val i de 9 repeticions. Els nostres resultats coincideixen amb aquestes troballes prèvies.

La diferent resposta observada a l'escorça prefrontal durant els processos de memòria de treball podria venir donada per les diferències a nivell anatòmic i ultraestructural en l'expressió de la COMT i del DAT (Bertolino *et al.*, 2006). L'al·lel Met s'associa a una menor activitat enzimàtica que presumiblement dóna lloc a uns nivells de dopamina sinàptica més elevats, cosa que augmentaria directament la relació entre senyal i soroll de les neurones glutamatèrgiques piramidals a través de l'estimulació dels receptors D₁ (Seamans i Yang, 2004), donat que la COMT s'expressa a l'escorça prefrontal (Karoum *et al.*, 1994), en especial a l'àrea dendrítica (Matsumoto *et al.*, 2003), amb una distribució similar a la dels receptors D₁ (Diop *et al.*, 1988). Aquesta major disponibilitat dopaminèrgica es traduiria en un millor rendiment en les tasques cognitives i en una major eficiència de la resposta fisiològica prefrontal (Bertolino *et al.*, 2006). Pel que fa al DAT, els nostres resultats també coincideixen amb els descrits per Bertolino *et al.* (2006), els quals proposen dues possibles vies a través de les quals el DAT pot regular la dopamina prefrontal. Una seria la via directa, la qual consisteix en la recaptació de la dopamina a l'escorça prefrontal. D'aquesta manera, l'al·lel de 10 repeticions del DAT, el qual s'associa a majors nivells de transcripció de la proteïna, portaria a uns nivells menors de disponibilitat dopaminèrgica i, en conseqüència, a una menor activació dels receptors D₂ dopaminèrgics, la majoria dels quals són

extrasinàptics i amb els quals el DAT mostra una distribució similar (Pickel *et al.*, 2002; Negyessy i Goldman-Rakic, 2005). La menor concentració de dopamina extrasinàptica portaria a una menor activació dels receptors D_2 i a l'augment de l'alliberament de GABA, la qual cosa faria augmentar la relació entre senyal i soroll a les neurones piramidals (Seamans i Yang, 2004) i explicaria la resposta més focalitzada observada en els subjectes homozigots per a aquest al·lel. El DAT també afectaria la funció prefrontal indirectament a través de les vies cortico-estriato-talamo-corticals, circuit que s'ha suggerit que té com a funció augmentar la relació entre senyal i soroll a l'escorça, facilitant el *binding* i eliminant l'activitat cerebral que no contribueix a la focalització de la memòria de treball. L'efecte net de la dopamina estriatal és una reducció de l'output dels ganglis basals, la qual cosa porta a un augment de l'activitat de les neurones de projecció talamocorticals (Wichmann i DeLong, 1996). D'aquesta manera, la resposta més focalitzada de les vies talamocorticals associades a l'al·lel de 10 repeticions del DAT augmentaria la relació entre senyal i soroll a l'escorça, cosa que es traduiria en una menor activació cerebral. Per tant, és possible que l'efecte observat a l'escorça prefrontal vingui donat per un efecte als circuits corticoestriatals, amb la COMT actuant a l'escorça prefrontal i el DAT fent-ho a l'escorça prefrontal, a l'estriat o als dos llocs. L'efecte seria més evident a l'escorça prefrontal donat que és la regió més robustament implicada per la nostra tasca de memòria de treball.

A diferència d'estudis previs que han trobat un efecte independent dels genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació cerebral durant la realització de tasques de memòria de treball (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006), en el nostre estudi no vàrem observar un efecte de cap dels dos genotips de manera aïllada. És possible que el nostre disseny no ens permetés detectar els efectes individuals, més petits, de cada genotip i que només l'efecte additiu, més gran, fos detectable. Malgrat el nombre considerable de subjectes que formaven la mostra, l'elevat nombre de petits grups genètics, que es fa evident d'una manera especial per la manca de subjectes homozigots per a l'al·lel Met i de 9 repeticions, podria haver-nos impedit observar l'efecte independent de cada genotip. A més, possibles efectes d'interacció són més difícilment detectables amb grups tan reduïts. També és d'interès tenir en compte dues

diferències importants entre els estudis previs i el nostre. Una d'elles fa referència a la mostra, donat que l'estudi d'Egan *et al.* (2001) va mostrar diferències en pacients esquizofrènics i en els seus germans sans, mentre que la nostra mostra estava composta de subjectes joves sans sense antecedents familiars de malaltia psicòtica. Pel que fa a l'estudi de Bertolino *et al.* (2006), malgrat que també van estudiar una mostra de subjectes sans, en el nostre cas la mostra era més homogènia en termes d'edat i amb una mitjana substancialment inferior. La pèrdua de funció dopaminèrgica en el lòbul frontal s'ha demostrat amb estudis *post mortem* i de neuroimatge *in vivo* (Rinne, 1987; de Keyser *et al.*, 1990; Suhara *et al.*, 1991; Kaasinen *et al.*, 2000; Volkow *et al.*, 2000). Aquest declivi en la funció dopaminèrgica sembla iniciar-se d'hora (Goldman-Rakic i Brown, 1981) i s'estima que ocorre a un ritme d'entre un 11 i un 13% per dècada d'edat (Kaasinen *et al.*, 2000). Per tant, tot i que no es pot dir que les mostres emprades en altres estudis estan formades per persones d'edat avançada, la mitjana d'edat de la nostra mostra era més de 10 anys més baixa, la qual cosa podria dur a pensar que els nostres subjectes disposarien d'una major reserva funcional dopaminèrgica. Tota reducció de la funció dopaminèrgica en subjectes de major edat, com seria la causada pel major catabolisme de la dopamina provocat per la presència de l'al·lèl Val, podria tenir uns efectes perjudicials sobre la funció prefrontal més pronunciats que els que s'observarien en subjectes més joves (Ho *et al.*, 2005). Una altra diferència respecte aquests dos estudis es pot trobar en la tasca emprada durant l'adquisició de les imatges de RMf. La tasca emprada en els estudis d'Egan *et al.* (2001) i Bertolino *et al.* (2006) suposaria una major càrrega de memòria de treball que la que nosaltres hem fet servir, donat que en el seu cas cada estímul és una diana, la qual cosa no passa en la nostra tasca. Malgrat que el patró d'activació obtingut per la tasca coincideix amb el descrit en estudis previs per a la memòria de treball, la menor càrrega en la nostra tasca podria explicar la discrepància en els resultats.

El nostre estudi va mostrar un efecte dels genotips de la COMT i del DAT a l'escorça prefrontal dorsolateral, la qual sustenta la memòria de treball (Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1994; Williams i Goldman-Rakic, 1995). Aquests resultats es poden interpretar com a conseqüència d'una menor eficiència de la

resposta fisiològica de l'escorça prefrontal dorsolateral (Egan *et al.*, 2001). La COMT s'expressa a nivells elevats a l'escorça prefrontal dorsolateral (Hong *et al.*, 1998; Matsumoto *et al.*, 2003), on regula els nivells de dopamina sinàptics (Gogos *et al.*, 1998) i, d'aquesta manera, modula el funcionament prefrontal (Sawaguchi i Goldman-Rakic, 1994). Donat que l'activitat de l'al·lel Val és major que la de l'al·lel Met, els subjectes homozigots per a l'al·lel Val serien aquells amb uns nivells menors de disponibilitat dopaminèrgica, la qual cosa aniria lligada a una major activació. Donat que tots els subjectes van mostrar un rendiment similar en la tasca de l'*N-back*, l'activació més focalitzada observada en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met es pot considerar com una major eficiència de la resposta prefrontal per a la tasca de memòria de treball (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006). A més, el DAT exerciria el seu efecte a través de les vies cortico-estriato-talamo-corticals. En aquest cas, l'al·lel de 10 repeticions aniria relacionat a una reducció de l'activitat de les neurones talàmiques que projecten a l'escorça i, en conseqüència, augmentarien la relació entre senyal i soroll de les neurones corticals, cosa que es traduiria en uns nivells d'activació menors.

Schott *et al.* (2006) han descrit recentment un efecte anatòmicament diferenciat dels genotips de la COMT i el DAT sobre l'activació cerebral durant la formació de la memòria episòdica. Els efectes del DAT i de la COMT es van trobar al mesencèfal i a l'escorça prefrontal, respectivament. En el nostre estudi no es va observar un paper anatòmicament i funcionalment diferenciat dels genotips de la COMT i del DAT, com es podria haver esperat que succeís entre l'escorça prefrontal dorsolateral i el nucli estriat, donat que ambdues regions s'activaven durant l'*N-back* i mostren una expressió diferencial de la COMT i del DAT. Com s'ha comentat abans, potser el nostre disseny no va ser prou potent per detectar aquests efectes més petits i només l'efecte additiu, més gran, va ser detectat.

També es van observar efectes del genotip de la COMT i del DAT sobre l'execució en el WCST i el CPT. L'anàlisi de regressió múltiple va mostrar un efecte del genotip de la COMT sobre el nombre d'errors perseveratius en el WCST. Els subjectes homozigots per a l'al·lel Val van ser els que van cometre

més errors perseveratius, seguits dels subjectes heterozigots i, finalment, dels subjectes homozigots per a l'al·lel Met. Els resultats conductuals reforcen, per tant, les observacions prèvies relatives a un paper del genotip de la COMT sobre la funció prefrontal en subjectes sans (Egan *et al.*, 2001; Malhotra *et al.*, 2002; Bruder *et al.*, 2005); tanmateix, altres estudis han obtingut resultats negatius (Joober *et al.*, 2002; Ho *et al.*, 2005). Quan es va introduir el temps de reacció del CPT com a variable dependent només es va observar un efecte del genotip del DAT. Els temps de reacció més elevats es van observar en els subjectes homozigots per a l'al·lel de 9 repeticions, mentre que els subjectes homozigots per a l'al·lel de 10 repeticions van mostrar els temps de reacció més baixos. El nombre d'errors de comissió en el CPT estava inversament relacionat amb el nombre d'al·lels de 9 repeticions i directament relacionat amb el nombre d'al·lels Val. El temps de reacció més baix juntament amb el nombre d'errors de comissió més elevat podria ser considerat un signe d'impulsivitat (Conners, 2004). Els resultats obtinguts serien, per tant, coherents amb els estudis que han trobat una associació entre l'al·lel de 10 repeticions i el trastorn per dèficit d'atenció amb hiperactivitat (Cook *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1997; Waldman *et al.*, 1998; Madras *et al.*, 2002), donat que la impulsivitat és una característica central d'aquesta patologia (Biederman i Faraone, 2005; Madras *et al.*, 2005; Winstanley *et al.*, 2006). A més, s'han descrit nivells més elevats de DAT estriatal en subjectes amb TDAH (Dougherty *et al.*, 1999; Krause *et al.*, 2003), els quals provocarien una menor disponibilitat de dopamina estriatal. El tractament farmacològic del TDAH produeix un augment dels nivells de dopamina estriatal, la qual cosa milloraria les funcions atencionals a través d'un augment de la relació entre senyal i soroll a les neurones diana (Volkow *et al.*, 2001).

Estudis recents han trobat efectes d'interacció entre diferents gens implicats en la transmissió dopaminèrgica sobre trets de personalitat (Reuter *et al.*, 2006), sobre les funcions cognitives prefrontals (Reuter *et al.*, 2005; Meyer-Lindenberg *et al.*, 2006; Alfimova *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007) i sobre l'edat d'inici i els símptomes clínics de l'esquizofrènia (Numata *et al.*, 2007). Com s'ha esmentat anteriorment, no es pot excloure la possibilitat que el reduït nombre de subjectes en cada subgrup genètic hagi dificultat l'observació d'un possible

efecte d'interacció entre els genotips de la COMT i del DAT. Tanmateix, els nostres resultats suggereixen que els efectes dels genotips de la COMT i del DAT sobre l'activació cerebral relacionada amb la memòria de treball són additius, és a dir, que l'efecte d'un genotip sobre l'activació cerebral no depèn de l'altre genotip. Aquests resultats estan d'acord amb d'altres obtinguts prèviament (Bertolino *et al.*, 2006).

Malgrat que l'estret rang d'edats i etnicitat de la mostra (íntegrament formada per subjectes caucàsics) emprada en aquest estudi pot limitar la generalització, els resultats obtinguts són rellevants donat que aporten evidència d'un efecte dels genotips de la COMT i del DAT tant sobre l'activació cerebral com sobre el rendiment cognitiu en subjectes joves sans. Els valors de P relativament permissius i la manca de correcció per comparacions múltiples no permeten excloure totalment la possibilitat que els efectes siguin provocats per atzar. Tanmateix, els efectes dels genotips de la COMT i el DAT sobre l'activació cerebral s'observen en una regió cerebral implicada en la memòria de treball (Callicott *et al.*, 1999; Callicott *et al.*, 2003) l'activitat de la qual s'ha trobat que està modulada pels genotips de la COMT i del DAT (Egan *et al.*, 2001; Bertolino *et al.*, 2006), per la qual cosa sembla poc probable que els resultat vinguin donats per l'atzar.

En conjunt, els nostres resultats tant reforcen troballes anteriors com aporten coneixement nou sobre l'efecte de dos genotips crucials per a la transmissió dopaminèrgica, la qual està al darrere de diverses patologies psiquiàtriques. L'estudi dels factors determinants de la transmissió dopaminèrgica, tant pel que fa a la seva eliminació com al seu alliberament o acoblament als receptors pot ser de gran ajuda a l'hora d'entendre el paper del sistema dopaminèrgic en les patologies mentals i de desenvolupar noves i millors vies de tractament dels dèficits cognitius associats a aquestes patologies.

5.2. Discussió de l'estudi *Emocions*

El patró d'activació obtingut de la tasca de processament d'expressions facials d'emocions va mostrar activació d'àrees cerebrals prèviament implicades en el processament emocional (Dolan, 2002; Smolka *et al.*, 2005; Takahashi *et al.*, 2005). Aquestes àrees incloïen regions occipitals, frontals i parietals, l'ínsula bilateralment i l'amígdala dreta. Les proves d'anàlisi de la variància van mostrar un efecte del genotip de la COMT sobre l'activació en l'amígdala dreta. Anàlisis posteriors van revelar una major activació d'aquesta estructura en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met en comparació als subjectes portadors de l'al·lel Val. Donat que la COMT s'expressa a l'amígdala, la major activació en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met podria venir donada pels majors nivells de dopamina en aquesta estructura.

Els resultats obtinguts en aquest estudi són coherents amb estudis de RMf previs que donen suport a la major activació relacionada amb l'al·lel Met durant el processament emocional. En aquest sentit, Smolka *et al.* (2005) van descriure una relació entre el genotip de la COMT i la resposta neural a estímuls desagradables. Concretament, el nombre d'al·lels Met correlacionava positivament amb la reactivitat davant d'aquest tipus d'estímuls de diverses àrees límbiques i prefrontals. Fent servir la mateixa tasca que l'emprada en el nostre estudi, Drabant *et al.* (2006) van observar una major activació en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met en comparació als homozigots per a l'al·lel Val en la formació hipocampal i en l'escorça prefrontal ventrolateral. Tot i que varen observar activació de l'amígdala en relació amb la tasca, no varen observar cap efecte del genotip de la COMT sobre l'activació d'aquesta estructura. Sí varen observar, però, que els subjectes homozigots per a l'al·lel Met mostraven un major acoblament funcional entre regions límbiques, incloent-hi l'amígdala, i prefrontals en comparació als subjectes homozigots per a l'al·lel Val. Els resultats també estan d'acord amb el fet que l'administració de dextroamfetamina potencia la resposta de l'amígdala durant el processament perceptual d'expressions facials de por i enuig (Hariri *et al.*, 2002a) i amb que l'administració d'L-DOPA en pacients de Parkinson en restableix l'activació (Tessitore *et al.*, 2002). Aquestes dades posen de rellevància el paper clau de

l'amígdala en l'extracció de la informació afectiva dels estímuls ambientals (Hariri *et al.*, 2002a). El fet que no s'hagin observat efectes en altres regions podria indicar que aquestes regions, al contrari que l'amígdala, no són crítiques per al processament d'aquesta informació. Enlloc d'això, podrien ser àrees implicades en processos perceptius generals tals com el reconeixement de cares respecte altres objectes (Kanwisher *et al.*, 1997; Haxby *et al.*, 2002).

S'ha suggerit que la relació entre nivells més elevats de dopamina i activació a l'amígdala podria venir donada pel fet que la dopamina potencia la resposta de l'amígdala a través de l'atenuació de l'efecte dels inputs inhibitoris procedents de l'escorça prefrontal i augmentant l'efecte excitador dels inputs procedents de les escorces sensorials (Rosenkranz i Grace, 1999; Hariri *et al.*, 2002a; Smolka *et al.*, 2005). En un treball recent, Bilder *et al.* (2004) proposen un possible mecanisme a través del qual el polimorfisme Val^{108/158} Met de la COMT modularia la reactivitat corticolímbica. Segons el seu model d'activitat dopaminèrgica tònica/fàsica l'al·lel Met s'associaria a una major transmissió dopaminèrgica tònica (i menor transmissió fàsica) subcorticalment i a una major transmissió fàsica corticalment. S'ha hipotetitzat que aquests canvis en el to dopaminèrgic donarien com a resultat una major estabilitat de les xarxes neurals, però també podria ser que convertissin aquestes xarxes en inflexibles per al processament d'informació. Les dades fisiològiques, juntament amb dades conductuals que relacionen l'al·lel Met amb un dèficit en l'alternança entre diverses tasques, han portat a proposar que bona part de l'emocionalitat negativa associada a l'al·lel Met estaria relacionada amb l'esmentada inflexibilitat (Bilder *et al.*, 2004; Drabant *et al.*, 2006).

L'estudi d'altres polimorfismes, com el del transportador de la serotonina, també ha mostrat un efecte sobre la resposta de l'amígdala davant de cares de por i enuig (Hariri *et al.*, 2002b). S'ha suggerit que la major activació observada en els portadors de l'al·lel curt del transportador de la serotonina podria reflectir un cert grau d'hiperreactivitat davant d'estímuls ambientals rellevants. Donat que s'ha observat que en els portadors de l'al·lel curt hi ha un augment de trets de personalitat relacionats amb l'ansietat i que els esdeveniments vitals estressants porten més freqüentment a desordres de l'estat d'ànim i al suïcidi

(Caspi *et al.*, 2003), s'ha proposat que aquest augment de la reactivitat de l'amígdala influït per factors genètics pot contribuir a una major vulnerabilitat davant esdeveniments vitals estressants.

Altres estudis que han emprat una tasca similar a la que hem fet servir nosaltres han descrit activació bilateral de l'amígdala (Hariri *et al.*, 2000; Hariri *et al.*, 2002a; Hariri *et al.*, 2002b; Drabant *et al.*, 2006). Algunes diferències entre aquests estudis i el nostre podrien explicar aquest fet. En primer lloc, igual que en l'estudi de l'*N-back*, la mitjana d'edat de la nostra mostra era considerablement inferior a les d'altres estudis. Una altra diferència entre els estudis previs i el nostre es troba en la durada de la tasca emprada, la qual era més curta en els altres estudis. L'ús d'una tasca més llarga té l'avantatge que permet l'obtenció d'una major quantitat de dades per cada subjecte, però podria també comportar l'habitució de l'amígdala (Breiter *et al.*, 1996). Tanmateix, l'anàlisi dels 5 primers blocs de la tasca (els 3 primers de control i els 2 primers d'activació) tampoc no va mostrar activació de l'amígdala esquerra. Finalment, la utilització d'un escàner de 3 tesles, el qual és més sensible a la resposta cerebral, podria facilitar la captació de l'efecte de la tasca sobre l'activació de l'amígdala. Malgrat tot, l'observació d'activació de l'amígdala dreta durant la realització de la tasca i la troballa d'un efecte del genotip de la COMT sobre aquesta estructura està d'acord amb estudis previs (Hariri *et al.*, 2002a; Smolka *et al.*, 2005; Drabant *et al.*, 2006) i és consistent amb la proposta d'un paper destacat per a l'hemisferi dret en el processament emocional (Hariri *et al.*, 2002b; Noesselt *et al.*, 2005).

També és d'interès l'observació d'activació a l'ínsula bilateralment durant el processament de cares d'enuig i de por. Alguns estudis de neuroimatge funcional duts a terme en subjectes sans han evidenciat activació de l'ínsula davant expressions facials de fàstic (Phillips *et al.*, 1997; Phillips *et al.*, 1998; Sprengelmeyer *et al.*, 1998; Calder *et al.*, 2000; Wright *et al.*, 2004). Tanmateix, també s'ha observat activació d'aquesta regió cerebral en relació a altres emocions com ara tristesa (Lane *et al.*, 1997; Beauregard *et al.*, 2006), por (Morris *et al.*, 1996; Critchley *et al.*, 2002; Schienle *et al.*, 2002) i alegria, així com durant la categorització explícita d'emocions facials (Gorno-Tempini *et al.*,

2001). Wright *et al.* (2003) varen observar una major resposta de l'escorça insular dreta davant cares expressant por en comparació a cares neutres en una mostra de pacients fòbics comparats amb subjectes sans. Tot i que l'ínsula pot mostrar una especialització funcional per al fàstic (Calder *et al.*, 2001) el seu paper en el processament emocional sembla no estar restringit a una emoció particular (Morris i Dolan, 2004). L'observació en el nostre estudi d'activació a l'ínsula anterior bilateralment dóna suport a la idea que l'ínsula pot estar implicada en el processament d'emocions més enllà del fàstic. També s'ha descrit implicació de l'ínsula en tasques emocionals que impliquen certa demanda cognitiva (Gorno-Tempini *et al.*, 2001; Phan *et al.*, 2002), així com per al processament de la valència negativa de certes emocions (Anders *et al.*, 2004). La nostra tasca posseïa aquestes dues característiques. En la tasca emprada en el nostre estudi els subjectes havien de prendre una decisió en relació a l'expressió de les cares que se'ls presentava, la qual sempre era una expressió negativa.

Els resultats del nostre estudi, per tant, evidencien l'efecte del genotip de la COMT sobre l'activació cerebral durant el processament emocional. Tanmateix, nosaltres no hem determinat directament els nivells de dopamina sinàptica disponible, cosa que seria crucial per entendre com la dopamina afecta el processament emocional. Donat que l'alteració de la transmissió dopaminèrgica està present en diverses condicions psiquiàtriques i neurològiques, en les quals s'ha evidenciat afectació del processament emocional (Salgado-Pineda *et al.*, 2005; Lawrence *et al.*, 2007), conèixer com els factors genètics contribueixen a la funció cerebral i confereixen vulnerabilitat a la patologia és extremadament rellevant per tal d'avançar en la cerca de noves aproximacions al diagnòstic i al tractament.

DISCUSSIÓ GENERAL

6. DISCUSSIÓ GENERAL

En conjunt, els nostres dos estudis posen de manifest un efecte dels polimorfismes Val^{108/158} Met de la COMT i 40 bp VNTR del DAT tant sobre l'activació cerebral com sobre el rendiment cognitiu. Concretament, l'al·lel Met de la COMT i el de 10 repeticions del DAT s'han relacionat amb una menor activació de l'àrea 9 de Brodmann de l'escorça prefrontal durant la realització d'una tasca de memòria de treball. Per altra banda, l'al·lel Met s'ha relacionat amb major activació de l'amígdala dreta durant la realització d'una tasca de processament emocional. Pel que fa a les dades conductuals, l'al·lel Met s'ha relacionat amb una millor execució en el *Wisconsin Card Sorting Test*, mesurat pel nombre d'errors perseveratius, així com amb un menor nombre d'errors de comissió en el *Continuous Performance Test*. Pel que fa al DAT, és va observar que l'al·lel de 10 repeticions estava relacionat amb un menor temps de reacció i un major nombre d'errors de comissió en el CPT.

L'al·lel Val de la COMT s'ha relacionat amb majors nivells d'activació durant processos de memòria de treball (Egan *et al.*, 2001; Ho *et al.*, 2005) i amb un pitjor funcionament executiu (Egan *et al.*, 2001; Joober *et al.*, 2002; Malhotra *et al.*, 2002; Rosa *et al.*, 2004; de Frias *et al.*, 2005). Aquestes troballes han dut a suggerir que aquest al·lel confereix un cert desavantatge per a la funció prefrontal i ha estat proposat com un gen candidat per a

l'esquizofrènia. Per altra banda, l'al·lel Met s'ha associat a patologies relacionades amb l'ansietat i caracteritzades per estats d'ànim negatius (Ohara *et al.*, 1998a; Enoch *et al.*, 2003; Woo *et al.*, 2004; Olsson *et al.*, 2005), tot i que els resultats han estat controvertits (Gutierrez *et al.*, 1997; Kunugi *et al.*, 1997; Ohara *et al.*, 1998b). En els nostres estudis, l'al·lel Met, el qual s'associa a menors nivells de degradació dopaminèrgica que l'al·lel Val (Lotta *et al.*, 1995; Chen *et al.*, 2004), es va relacionar amb una menor activació durant la tasca de memòria de treball de l'*N-back* i amb una major activació durant el processament d'estímuls emocionals. Per tant, els resultats dels nostres dos estudis donen suport a un efecte diferencial de les variacions en els nivells de dopamina sobre l'activació cerebral que és dependent de la tasca realitzada (Heinz i Smolka, 2006). Drabant *et al.* (2006) proposen que la predisposició genètica en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met per focalitzar l'atenció en un conjunt rellevant d'estímuls i inhibir la interferència d'altres estímuls és avantatjosa en el context de la memòria de treball, però és perjudicial en el context d'ambients consistents en estímuls biològicament provocatius (p.e., estressors crònics o aguts) que requereixen un processament ràpid i flexible. Aquest fet és fa evident amb el fenotip dels subjectes homozigots per a l'al·lel Met, els quals mostren una reactivitat augmentada dels circuits cerebrals implicats en la generació i la regulació de les respostes afectives.

Una assumpció bàsica de l'ús de les tècniques de neuroimatge funcional per a l'estudi de la influència de polimorfismes genètics en humans és el suposat major impacte dels polimorfismes a nivell de la fisiologia cerebral que a nivell del comportament. A més, la resposta de les regions que sustenten processos cognitius i emocionals específics pot ser mesurada d'una manera més objectiva que no pas l'experiència subjectiva d'aquests mateixos processos. La major variabilitat i subjectivitat de les mesures comportamentals fan que siguin necessàries mostres molt grans per tal de poder detectar els efectes dels gens sobre el comportament (Hariri i Weinberger, 2003). Tanmateix, els resultats obtinguts dels nostres estudis no semblen estar d'acord amb aquestes afirmacions. En l'estudi de l'*N-back*, els genotips de la COMT i del DAT varen mostrar un efecte tant a nivell de fisiologia cerebral com a nivell d'execució en les proves conductuals. A més, la variància explicada

pels genotips no sembla diferent pel que fa a la resposta BOLD o al rendiment en les proves conductuals. En l'estudi de les emocions, la variància explicada per la COMT sobre la resposta BOLD era similar a l'explicada sobre l'activació durant l'*N-back* i sobre el rendiment en les proves prefrontals.

Recentment, la combinació de genètica molecular i neuroimatge ha proporcionat una important quantitat de dades que ajuden a entendre els mecanismes biològics que governen el processament cognitiu i emocional. Aquests estudis han demostrat que les variacions genètiques que afecten la transmissió dopaminèrgica tenen un impacte sobre la resposta fisiològica del sistema dopaminèrgic i sobre les funcions cerebrals a ell associades, i que aquestes variacions poden explicar un cert grau de la variabilitat interindividual observada en processos com la memòria de treball o el processament emocional. En conclusió, els avenços en genètica molecular i neuroimatge han començat a desvetllar la relació entre gens, comportament i funcionament cerebral. Aquesta aproximació s'ha mostrat útil a l'hora d'entendre les influències genètiques que contribueixen a les diferències interindividuals tant en subjectes sans com en condicions patològiques. Esclarir l'efecte que tenen les variacions genètiques sobre el funcionament cerebral hauria d'ajudar a entendre els mecanismes biològics subjacents a les diferències interindividuals en el comportament i a la vulnerabilitat a certes patologies (Caldú i Dreher, 2007).

CONCLUSIONS

7. CONCLUSIONS

1. Durant els processos de memòria de treball, l'activació cerebral a l'àrea 9 de Brodmann observada en subjectes sans igualats per rendiment està directament relacionada amb el número d'al·lels Val de la COMT i de 9 repeticions del DAT.
2. En subjectes sans, el rendiment en tasques que mesuren la funció prefrontal està directament relacionat amb el número d'al·lels Met de la COMT i de 9 repeticions del DAT.
3. Durant el processament emocional l'activació cerebral a l'amígdala dreta observada en subjectes sans és major en els subjectes homozigots per a l'al·lel Met de la COMT que en els subjectes portadors de l'al·lel Val.
4. Contràriament a les nostres hipòtesis, no hem pogut establir cap relació entre el polimorfisme del DAT estudiat i l'activació de l'amígdala.
5. L'activació cerebral durant la realització de tasques cognitives pot estar regulada pels polimorfismes de la COMT i del DAT de forma directa (per l'activitat d'aquests en la regió activada) o indirecta a través de la regulació de regions distants relacionades amb l'àrea activada.

REFERÈNCIES

8. REFERÈNCIES

Abi-Dargham, A., i Moore, H. (2003) Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist* **9**: 404-416.

Abi-Dargham, A., Mawlawi, O., Lombardo, I., Gil, R., Martinez, D., Huang, Y. *et al.* (2002) Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. *J Neurosci* **22**: 3708-3719.

Adolphs, R., Tranel, D., Damasio, H., i Damasio, A. (1994) Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala. *Nature* **372**: 669-672.

Akil, M., Edgar, C. L., Pierri, J. N., Casali, S., i Lewis, D. A. (2000) Decreased density of tyrosine hydroxylase-immunoreactive axons in the entorhinal cortex of schizophrenic subjects. *Biol Psychiatry* **47**: 361-370.

Akil, M., Kolachana, B. S., Rothmond, D. A., Hyde, T. M., Weinberger, D. R., i Kleinman, J. E. (2003) Catechol-O-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *J Neurosci* **23**: 2008-2013.

- Akil, M., Pierri, J. N., Whitehead, R. E., Edgar, C. L., Mohila, C., Sampson, A. R., i Lewis, D. A. (1999) Lamina-specific alterations in the dopamine innervation of the prefrontal cortex in schizophrenic subjects. *Am J Psychiatry* **156**: 1580-1589.
- Alfimova, M. V., Golimbet, V. E., Gritsenko, I. K., Lezheiko, T. V., Abramova, L. I., Strel'tsova, M. A. *et al.* (2007) Interaction of dopamine system genes and cognitive functions in patients with schizophrenia and their relatives and in healthy subjects from the general population. *Neurosci Behav Physiol* **37**: 643-650.
- Anders, S., Lotze, M., Erb, M., Grodd, W., i Birbaumer, N. (2004) Brain activity underlying emotional valence and arousal: a response-related fMRI study. *Hum Brain Mapp* **23**: 200-209.
- Apud, J. A., Mattay, V., Chen, J., Kolachana, B. S., Callicott, J. H., Rasetti, R. *et al.* (2007) Tolcapone improves cognition and cortical information processing in normal human subjects. *Neuropsychopharmacology* **32**: 1011-1020.
- Arnsten, A. F. (1997) Catecholamine regulation of the prefrontal cortex. *J Psychopharmacol* **11**: 151-162.
- Arnsten, A. F., i Goldman-Rakic, P. S. (1998) Noise stress impairs prefrontal cortical cognitive function in monkeys: evidence for a hyperdopaminergic mechanism. *Arch Gen Psychiatry* **55**: 362-368.
- Arnsten, A. F., Cai, J. X., Murphy, B. L., i Goldman-Rakic, P. S. (1994) Dopamine D1 receptor mechanisms in the cognitive performance of young adult and aged monkeys. *Psychopharmacology* **116**: 143-151.
- Augustine, J. R. (1996) Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans. *Brain Res Brain Res Rev* **22**: 229-244.
- Axelrod, J., i Tomchick, R. (1958) Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J Biol Chem* **233**: 702-705.

- Backman, L., i Farde, L. (2001) Dopamine and cognitive functioning: brain imaging findings in Huntington's disease and normal aging. *Scand J Psychol* **42**: 287-296.
- Baddeley, A. (1992) Working memory. *Science* **255**: 556-559.
- Bauer, R. H., i Fuster, J. M. (1978) Effects of d-amphetamine and prefrontal cortical cooling on delayed matching-to-sample behavior. *Pharmacol Biochem Behav* **8**: 243-249.
- Beauregard, M., Paquette, V., i Levesque, J. (2006) Dysfunction in the neural circuitry of emotional self-regulation in major depressive disorder. *Neuroreport* **17**: 843-846.
- Bellgrove, M. A., Domschke, K., Hawi, Z., Kirley, A., Mullins, C., Robertson, I. H., i Gill, M. (2005) The methionine allele of the COMT polymorphism impairs prefrontal cognition in children and adolescents with ADHD. *Exp Brain Res* **163**: 352-360.
- Bertolino, A., Blasi, G., Latorre, V., Rubino, V., Rampino, A., Sinibaldi, L. *et al.* (2006) Additive effects of genetic variation in dopamine regulating genes on working memory cortical activity in human brain. *J Neurosci* **26**: 3918-3922.
- Biederman, J., i Faraone, S. V. (2005) Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet* **366**: 237-248.
- Bilder, R. M., Volavka, J., Lachman, H. M., i Grace, A. A. (2004) The catechol-O-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology* **29**: 1943-1961.
- Bilder, R. M., Volavka, J., Czobor, P., Malhotra, A. K., Kennedy, J. L., Ni, X. *et al.* (2002) Neurocognitive correlates of the COMT Val(158)Met polymorphism in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* **52**: 701-707.
- Björklund, A., i Kökfelt, T. (1984) Classical neurotransmitters in the CNS. Part I. Elsevier, Amsterdam.

- Blair, R. J., Morris, J. S., Frith, C. D., Perrett, D. I., i Dolan, R. J. (1999) Dissociable neural responses to facial expressions of sadness and anger. *Brain* **122**: 883-893.
- Boussaoud, D., i Kermadi, I. (1997) The primate striatum: neuronal activity in relation to spatial attention versus motor preparation. *Eur J Neurosci* **9**: 2152-2168.
- Bouyer, J. J., Joseph, J. P., i Rougeul, A. (1979) Effects of two neuroleptic drugs on focal somatoparietal rhythms in free awake cats. *Psychopharmacology* **65**: 55-58.
- Breitenstein, C., Van Lancker, D., Daum, I., i Waters, C. H. (2001) Impaired perception of vocal emotions in Parkinson's disease: influence of speech time processing and executive functioning. *Brain Cogn* **45**: 277-314.
- Breiter, H. C., Etcoff, N. L., Whalen, P. J., Kennedy, W. A., Rauch, S. L., Buckner, R. L. *et al.* (1996) Response and habituation of the human amygdala during visual processing of facial expression. *Neuron* **17**: 875-887.
- Brothers, L., i Ring, B. (1993) Mesial temporal neurons in the macaque monkey with responses selective for aspects of social stimuli. *Behav Brain Res* **57**: 53-61.
- Brozoski, T. J., Brown, R. M., Rosvold, H. E., i Goldman, P. S. (1979) Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science* **205**: 929-932.
- Bruder, G. E., Keilp, J. G., Xu, H., Shikhman, M., Schori, E., Gorman, J. M., i Gilliam, T. C. (2005) Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes and working memory: associations with differing cognitive operations. *Biol Psychiatry* **58**: 901-907.
- Buchel, C., Dolan, R. J., Armony, J. L., i Friston, K. J. (1999) Amygdala-hippocampal involvement in human aversive trace conditioning revealed

- through event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* **19**: 10869-10876.
- Bush, G., Frazier, J. A., Rauch, S. L., Seidman, L. J., Whalen, P. J., Jenike, M. A. *et al.* (1999) Anterior cingulate cortex dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder revealed by fMRI and the Counting Stroop. *Biol Psychiatry* **45**: 1542-1552.
- Cai, J. X., i Arnsten, A. F. (1997) Dose-dependent effects of the dopamine D1 receptor agonists A77636 or SKF81297 on spatial working memory in aged monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* **283**: 183-189.
- Calder, A. J., Lawrence, A. D., i Young, A. W. (2001) Neuropsychology of fear and loathing. *Nat Rev Neurosci* **2**: 352-363.
- Calder, A. J., Keane, J., Manes, F., Antoun, N., i Young, A. W. (2000) Impaired recognition and experience of disgust following brain injury. *Nat Neurosci* **3**: 1077-1078.
- Caldú, X., i Dreher, J. C. (2007) Hormonal and genetic influences on processing reward and social informations. *Ann N Y Acad Sci* (en premsa).
- Callicott, J. H., Mattay, V. S., Verchinski, B. A., Marenco, S., Egan, M. F., i Weinberger, D. R. (2003) Complexity of prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia: more than up or down. *Am J Psychiatry* **160**: 2209-2215.
- Callicott, J. H., Mattay, V. S., Bertolino, A., Finn, K., Coppola, R., Frank, J. A. *et al.* (1999) Physiological characteristics of capacity constraints in working memory as revealed by functional MRI. *Cereb Cortex* **9**: 20-26.
- Cardinal, R. N., Pennicott, D. R., Sugathapala, C. L., Robbins, T. W., i Everitt, B. J. (2001) Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* **292**: 2499-2501.
- Carr, D. B., i Sesack, S. R. (2000) Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations

- with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci* **20**: 3864-3873.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H. *et al.* (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* **301**: 386-389.
- Castellanos, F. X. (1997) Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin Pediatr* **36**: 381-393.
- Castner, S. A., Williams, G. V., i Goldman-Rakic, P. S. (2000) Reversal of antipsychotic-induced working memory deficits by short-term dopamine D1 receptor stimulation. *Science* **287**: 2020-2022.
- 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. *Am J Hum Genet* **75**: 807-821.
- Cheon, K. A., Ryu, Y. H., Kim, J. W., i Cho, D. Y. (2005) The homozygosity for 10-repeat allele at dopamine transporter gene and dopamine transporter density in Korean children with attention deficit hyperactivity disorder: relating to treatment response to methylphenidate. *Eur Neuropsychopharmacol* **15**: 95-101.
- Chinta, S. J., i Andersen, J. K. (2005) Dopaminergic neurons. *Int J Biochem Cell Biol* **37**: 942-946.
- Ciliax, B. J., Heilman, C., Demchyshyn, L. L., Pristupa, Z. B., Ince, E., Hersch, S. M. *et al.* (1995) The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* **15**: 1714-1723.
- Conners, C. K. (2004) Continuous Performance Test II. Multi-Health System, Inc. Toronto.

- Cook, E. H., Jr, Stein, M. A., Krasowski, M. D., Cox, N. J., Olkon, D. M., Kieffer, J. E., i Leventhal, B. L. (1995) Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* **56**: 993-998.
- Cooper, J. A., Sagar, H. J., Jordan, N., Harvey, N. S., i Sullivan, E. V. (1991) Cognitive impairment in early, untreated Parkinson's disease and its relationship to motor disability. *Brain* **114**: 2095-2122.
- Coron, B., Campion, D., Thibaut, F., Dollfus, S., Preterre, P., Langlois, S. *et al.* (1996) Association study between schizophrenia and monoamine oxidase A and B DNA polymorphisms. *Psychiatry Res* **62**: 221-226.
- Critchley, H. D., Mathias, C. J., i Dolan, R. J. (2002) Fear conditioning in humans: the influence of awareness and autonomic arousal on functional neuroanatomy. *Neuron* **33**: 653-663.
- Cross, A. J., Crow, T. J., i Owen, F. (1981) 3H-Flupenthixol binding in post-mortem brains of schizophrenics: evidence for a selective increase in dopamine D2 receptors. *Psychopharmacology* **74**: 122-124.
- Crow, T. J., Johnstone, E. C., Longden, A. J., i Owen, F. (1978) Dopaminergic mechanisms in schizophrenia: the antipsychotic effect and the disease process. *Life Sci* **23**: 563-567.
- Daniel, D. G., Weinberger, D. R., Jones, D. W., Zigun, J. R., Coppola, R., Handel, S. *et al.* (1991) The effect of amphetamine on regional cerebral blood flow during cognitive activation in schizophrenia. *J Neurosci* **11**: 1907-1917.
- Daniels, J., Williams, J., Asherson, P., McGuffin, P., i Owen, M. (1995) No association between schizophrenia and polymorphisms within the genes for debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) and the dopamine transporter (DAT). *Am J Med Genet* **60**: 85-87.
- Davis, K. L., Kahn, R. S., Ko, G., i Davidson, M. (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* **148**: 1474-1486.

- de Chaldee, M., Laurent, C., Thibaut, F., Martinez, M., Samolyk, D., Petit, M. *et al.* (1999) Linkage disequilibrium on the COMT gene in French schizophrenics and controls. *Am J Med Genet* **88**: 452-457.
- de Chaldee, M., Corbex, M., Campion, D., Jay, M., Samolyk, D., Petit, M. *et al.* (2001) No evidence for linkage between COMT and schizophrenia in a French population. *Psychiatry Res* **102**: 87-90.
- de Frias, C. M., Annerbrink, K., Westberg, L., Eriksson, E., Adolfsson, R., i Nilsson, L. G. (2005) Catechol O-methyltransferase Val158Met polymorphism is associated with cognitive performance in nondemented adults. *J Cogn Neurosci* **17**: 1018-1025.
- de Keyser, J., De Backer, J. P., Vauquelin, G., i Ebinger, G. (1990) The effect of aging on the D1 dopamine receptors in human frontal cortex. *Brain Res* **528**: 308-310.
- Dearry, A., Gingrich, J. A., Falardeau, P., Fremeau, R. T., Jr, Bates, M. D., i Caron, M. G. (1990) Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature* **347**: 72-76.
- Delaveau, P., Salgado-Pineda, P., Wicker, B., Micallef-Roll, J., i Blin, O. (2005) Effect of levodopa on healthy volunteers' facial emotion perception: an FMRI study. *Clin Neuropharmacol* **28**: 255-261.
- Diaz-Asper, C. M., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Straub, R. E., Egan, M. F., i Weinberger, D. R. (2007) Genetic variation in catechol-O-methyltransferase: effects on working memory in schizophrenic patients, their siblings, and healthy controls. *Biol Psychiatry* (en premsa).
- Dinn, W. M., Robbins, N. C., i Harris, C. L. (2001) Adult attention-deficit/hyperactivity disorder: neuropsychological correlates and clinical presentation. *Brain Cogn* **46**: 114-121.
- Diop, L., Gottberg, E., Briere, R., Grondin, L., i Reader, T. A. (1988) Distribution of dopamine D1 receptors in rat cortical areas, neostriatum, olfactory bulb

- and hippocampus in relation to endogenous dopamine contents. *Synapse* **2**: 395-405.
- Dolan, R. J. (2002) Emotion, cognition, and behavior. *Science* **298**: 1191-1194.
- Domschke, K., Freitag, C. M., Kuhlenbaumer, G., Schirmacher, A., Sand, P., Nyhuis, P. *et al.* (2004) Association of the functional V158M catechol-O-methyl-transferase polymorphism with panic disorder in women. *Int J Neuropsychopharmacol* **7**: 183-188.
- Dougherty, D. D., Bonab, A. A., Spencer, T. J., Rauch, S. L., Madras, B. K., i Fischman, A. J. (1999) Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet* **354**: 2132-2133.
- Drabant, E. M., Hariri, A. R., Meyer-Lindenberg, A., Munoz, K. E., Mattay, V. S., Kolachana, B. S. *et al.* (2006) Catechol O-methyltransferase val158met genotype and neural mechanisms related to affective arousal and regulation. *Arch Gen Psychiatry* **63**: 1396-1406.
- Dresel, S., Krause, J., Krause, K. H., LaFougere, C., Brinkbaumer, K., Kung, H. F. *et al.* (2000) Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [99mTc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *Eur J Nucl Med* **27**: 1518-1524.
- Ebstein, R. P., Nemanov, L., Klotz, I., Gritsenko, I., i Belmaker, R. H. (1997) Additional evidence for an association between the dopamine D4 receptor (D4DR) exon III repeat polymorphism and the human personality trait of Novelty Seeking. *Mol Psychiatry* **2**: 472-477.
- Egan, M. F., i Weinberger, D. R. (1997) Neurobiology of schizophrenia. *Curr Opin Neurobiol* **7**: 701-707.
- 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. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 6917-6922.

- Eguiagaray, J. G., Egea, J., Bravo-Cordero, J. J., i Garcia, A. G. (2004) Neurotransmitters, calcium signalling and neuronal communication. *Neurocirugia* **15**: 109-118.
- Ekman, P., i Friesen, W. (1976) Pictures of facial affect. Palo Alto: Consulting Psychology Press.
- Enoch, M. A., Xu, K., Ferro, E., Harris, C. R., i Goldman, D. (2003) Genetic origins of anxiety in women: a role for a functional catechol-O-methyltransferase polymorphism. *Psychiatr Genet* **13**: 33-41.
- Epstein, J. N., Erkanli, A., Conners, C. K., Klaric, J., Costello, J. E., i Angold, A. (2003) Relations between Continuous Performance Test performance measures and ADHD behaviors. *J Abnorm Child Psychol* **31**: 543-554.
- Ernst, M., Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Jons, P. H., i Cohen, R. M. (1998) DOPA decarboxylase activity in attention deficit hyperactivity disorder adults. A [fluorine-18]fluorodopa positron emission tomographic study. *J Neurosci* **18**: 5901-5907.
- Ernst, M., Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Pascualvaca, D., Jons, P. H., i Cohen, R. M. (1999) High midbrain [18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* **156**: 1209-1215.
- Fan, J. B., Zhang, C. S., Gu, N. F., Li, X. W., Sun, W. W., Wang, H. Y. *et al.* (2005) Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol Psychiatry* **57**: 139-144.
- Faraone, S. V., Perlis, R. H., Doyle, A. E., Smoller, J. W., Goralnick, J. J., Holmgren, M. A., i Sklar, P. (2005) Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* **57**: 1313-1323.
- Feingold, A. (1982) The validity of the information and vocabulary subtests of the WAIS. *J Clin Psychol* **38**: 169-174.

- First, M. B., Spitzer, R. L., Gibbon, M., i Williams, J. B. W. (1998) Structured Clinical Interview for DSM-IV. Axis 1 Disorders. Biometrics Research Department, New York State Psychiatric Institute, New York. Non-patient Edition.
- Floderus, Y., i Wetterberg, L. (1981) The inheritance of human erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity. *Clin Genet* **19**: 392-395.
- Floresco, S. B., i Magyar, O. (2006) Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory. *Psychopharmacology* **188**: 567-585.
- Foltynie, T., Goldberg, T. E., Lewis, S. G., Blackwell, A. D., Kolachana, B. S., Weinberger, D. R. *et al.* (2004) Planning ability in Parkinson's disease is influenced by the COMT val158met polymorphism. *Mov Disord* **19**: 885-891.
- Freed, C., Revay, R., Vaughan, R. A., Kriek, E., Grant, S., Uhl, G. R., i Kuhar, M. J. (1995) Dopamine transporter immunoreactivity in rat brain. *J Comp Neurol* **359**: 340-349.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N., i Ishiura, S. (2001) The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J* **1**: 152-156.
- Gaebel, W., i Wolwer, W. (1992) Facial expression and emotional face recognition in schizophrenia and depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* **242**: 46-52.
- Gainetdinov, R. R., i Caron, M. G. (2003) Monoamine transporters: from genes to behavior. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **43**: 261-284.
- Galderisi, S., Maj, M., Kirkpatrick, B., Piccardi, P., Mucci, A., Invernizzi, G. *et al.* (2005) COMT Val(158)Met and BDNF C(270)T polymorphisms in schizophrenia: a case-control study. *Schizophr Res* **73**: 27-30.

- Gallagher, M., Graham, P. W., i Holland, P. C. (1990) The amygdala central nucleus and appetitive Pavlovian conditioning: lesions impair one class of conditioned behavior. *J Neurosci* **10**: 1906-1911.
- Gaspar, P., Bloch, B., i Le Moine, C. (1995) D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *Eur J Neurosci* **7**: 1050-1063.
- Gazzaley, A., Rissman, J., i Desposito, M. (2004) Functional connectivity during working memory maintenance. *Cogn Affect Behav Neurosci* **4**: 580-599.
- Gelernter, J., Kranzler, H., i Lacobelle, J. (1998) Population studies of polymorphisms at loci of neuropsychiatric interest (tryptophan hydroxylase (TPH), dopamine transporter protein (SLC6A3), D3 dopamine receptor (DRD3), apolipoprotein E (APOE), mu opioid receptor (OPRM1), and ciliary neurotrophic factor (CNTF)). *Genomics* **52**: 289-297.
- Gill, M., Daly, G., Heron, S., Hawi, Z., i Fitzgerald, M. (1997) Confirmation of association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter polymorphism. *Mol Psychiatry* **2**: 311-313.
- Gingrich, J. A., i Caron, M. G. (1993) Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci* **16**: 299-321.
- Giros, B., Wang, Y. M., Suter, S., McLeskey, S. B., Piffl, C., i Caron, M. G. (1994) Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J Biol Chem* **269**: 15985-15988.
- Glatt, S. J., Faraone, S. V., i Tsuang, M. T. (2003) Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. *Am J Psychiatry* **160**: 469-476.
- Goetz, C. G., Chmura, T. A., i Lanska, D. J. (2001) The history of Parkinson's disease: part 2 of the MDS-sponsored History of Movement Disorders Exhibit, Barcelona, June, 2000. *Mov Disord* **16**: 156-161.

- Gogos, J. A., Morgan, M., Luine, V., Santha, M., Ogawa, S., Pfaff, D., i Karayiorgou, M. (1998) Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**: 9991-9996.
- 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. *Arch Gen Psychiatry* **60**: 889-896.
- Goldman-Rakic, P. S., i Brown, R. M. (1981) Regional changes of monoamines in cerebral cortex and subcortical structures of aging rhesus monkeys. *Neuroscience* **6**: 177-187.
- Goldman-Rakic, P. S., Castner, S. A., Svensson, T. H., Siever, L. J., i Williams, G. V. (2004) Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. *Psychopharmacology* **174**: 3-16.
- Gorno-Tempini, M. L., Pradelli, S., Serafini, M., Pagnoni, G., Baraldi, P., Porro, C. *et al.* (2001) Explicit and incidental facial expression processing: an fMRI study. *Neuroimage* **14**: 465-473.
- Greenhill, L. L., Halperin, J. M., i Abikoff, H. (1999) Stimulant medications. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* **38**: 503-512.
- Gulberg, H. C., i Marsden, C. A. (1975) Catechol-O-methyl transferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacol Rev* **27**: 135-206.
- Gutierrez, B., Bertranpetit, J., Guillamat, R., Valles, V., Arranz, M. J., Kerwin, R., i Fananas, L. (1997) Association analysis of the catechol O-methyltransferase gene and bipolar affective disorder. *Am J Psychiatry* **154**: 113-115.
- Hariri, A. R., i Weinberger, D. R. (2003) Imaging genomics. *Br Med Bull* **65**: 259-270.

- Hariri, A. R., Bookheimer, S. Y., i Mazziotta, J. C. (2000) Modulating emotional responses: effects of a neocortical network on the limbic system. *Neuroreport* **11**: 43-48.
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Fera, F., Smith, W. G., i Weinberger, D. R. (2002a) Dextroamphetamine modulates the response of the human amygdala. *Neuropsychopharmacology* **27**: 1036-1040.
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D. *et al.* (2002b) Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* **297**: 400-403.
- Harrison, P. J. (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* **122**: 593-624.
- Haxby, J. V., Hoffman, E. A., i Gobbini, M. I. (2002) Human neural systems for face recognition and social communication. *Biol Psychiatry* **51**: 59-67.
- Heinz, A., i Smolka, M. N. (2006) The effects of catechol O-methyltransferase genotype on brain activation elicited by affective stimuli and cognitive tasks. *Rev Neurosci* **17**: 359-367.
- Heinz, A., Goldman, D., Jones, D. W., Palmour, R., Hommer, D., Gorey, J. G. *et al.* (2000) Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* **22**: 133-139.
- Heit, G., Smith, M. E., i Halgren, E. (1988) Neural encoding of individual words and faces by the human hippocampus and amygdala. *Nature* **333**: 773-775.
- Hemby, S. E., Trojanowski, J. Q., i Ginsberg, S. D. (2003) Neuron-specific age-related decreases in dopamine receptor subtype mRNAs. *J Comp Neurol* **456**: 176-183.
- Hersch, S. M., Yi, H., Heilman, C. J., Edwards, R. H., i Levey, A. I. (1997) Subcellular localization and molecular topology of the dopamine transporter in the striatum and substantia nigra. *J Comp Neurol* **388**: 211-227.

- Ho, B. C., Wassink, T. H., O'Leary, D. S., Sheffield, V. C., i Andreasen, N. C. (2005) Catechol-O-methyl transferase Val158Met gene polymorphism in schizophrenia: working memory, frontal lobe MRI morphology and frontal cerebral blood flow. *Mol Psychiatry* **10**: 229, 287-98.
- Hong, J., Shu-Leong, H., Tao, X., i Lap-Ping, Y. (1998) Distribution of catechol-O-methyltransferase expression in human central nervous system. *Neuroreport* **9**: 2861-2864.
- Huotari, M., Gogos, J. A., Karayiorgou, M., Koponen, O., Forsberg, M., Raasmaja, A. *et al.* (2002) Brain catecholamine metabolism in catechol-O-methyltransferase (COMT)-deficient mice. *Eur J Neurosci* **15**: 246-256.
- Hutson, P. H., Patel, S., Jay, M. T., i Barton, C. L. (2004) Stress-induced increase of cortical dopamine metabolism: attenuation by a tachykinin NK1 receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* **484**: 57-64.
- Jaber, M., Robinson, S. W., Missale, C., i Caron, M. G. (1996) Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* **35**: 1503-1519.
- Jacobs, D. H., Shuren, J., Bowers, D., i Heilman, K. M. (1995) Emotional facial imagery, perception, and expression in Parkinson's disease. *Neurology* **45**: 1696-1702.
- Jacobsen, L. K., Staley, J. K., Zoghbi, S. S., Seibyl, J. P., Kosten, T. R., Innis, R. B., i Gelernter, J. (2000) Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am J Psychiatry* **157**: 1700-1703.
- Joober, R., Gauthier, J., Lal, S., Bloom, D., Lalonde, P., Rouleau, G. *et al.* (2002) Catechol-O-methyltransferase Val-108/158-Met gene variants associated with performance on the Wisconsin Card Sorting Test. *Arch Gen Psychiatry* **59**: 662-663.
- Kaasinen, V., Vilkmán, H., Hietala, J., Nagren, K., Helenius, H., Olsson, H. *et al.* (2000) Age-related dopamine D2/D3 receptor loss in extrastriatal regions of the human brain. *Neurobiol Aging* **21**: 683-688.

- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., i Jessell, T. M. (2000) Principles of neural science. 4th ed. McGraw-Hill, Nova York.
- Kang, A. M., Palmatier, M. A., i Kidd, K. K. (1999) Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3). *Biol Psychiatry* **46**: 151-160.
- Kanwisher, N., McDermott, J., i Chun, M. M. (1997) The fusiform face area: a module in human extrastriate cortex specialized for face perception. *J Neurosci* **17**: 4302-4311.
- Karayiorgou, M., Sobin, C., Blundell, M. L., Galke, B. L., Malinova, L., Goldberg, P. *et al.* (1999) Family-based association studies support a sexually dimorphic effect of COMT and MAOA on genetic susceptibility to obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* **45**: 1178-1189.
- Karlsson, P., Farde, L., Halldin, C., i Sedvall, G. (2002) PET study of D(1) dopamine receptor binding in neuroleptic-naive patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* **159**: 761-767.
- Karoum, F., Chrapusta, S. J., i Egan, M. F. (1994) 3-Methoxytyramine is the major metabolite of released dopamine in the rat frontal cortex: reassessment of the effects of antipsychotics on the dynamics of dopamine release and metabolism in the frontal cortex, nucleus accumbens, and striatum by a simple two pool model. *J Neurochem* **63**: 972-979.
- Karreman, M., i Moghaddam, B. (1996) The prefrontal cortex regulates the basal release of dopamine in the limbic striatum: an effect mediated by ventral tegmental area. *J Neurochem* **66**: 589-598.
- Kee, K. S., Kern, R. S., Marshall, B. D., Jr, i Green, M. F. (1998) Risperidone versus haloperidol for perception of emotion in treatment-resistant schizophrenia: preliminary findings. *Schizophr Res* **31**: 159-165.
- Kee, K. S., Horan, W. P., Wynn, J. K., Mintz, J., i Green, M. F. (2006) An analysis of categorical perception of facial emotion in schizophrenia. *Schizophr Res* **87**: 228-237.

- Kesner, R. P., Bierley, R. A., i Pebbles, P. (1981) Short-term memory: the role of d-amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* **15**: 673-676.
- Kieling, C., Roman, T., Doyle, A. E., Hutz, M. H., i Rohde, L. A. (2006) Association between DRD4 gene and performance of children with ADHD in a test of sustained attention. *Biol Psychiatry* **60**: 1163-1165.
- Kimberg, D. Y., D'Esposito, M., i Farah, M. J. (1997) Effects of bromocriptine on human subjects depend on working memory capacity. *Neuroreport* **8**: 3581-3585.
- Kojima, H., Ohmori, O., Shinkai, T., Terao, T., Suzuki, T., i Abe, K. (1999) Dopamine D1 receptor gene polymorphism and schizophrenia in Japan. *Am J Med Genet* **88**: 116-119.
- Kolachana, B. S., Saunders, R. C., i Weinberger, D. R. (1995) Augmentation of prefrontal cortical monoaminergic activity inhibits dopamine release in the caudate nucleus: an in vivo neurochemical assessment in the rhesus monkey. *Neuroscience* **69**: 859-868.
- Kopp, B., Tabeing, S., Moschner, C., i Wessel, K. (2006) Fractionating the neural mechanisms of cognitive control. *J Cogn Neurosci* **18**: 949-965.
- Kotler, M., Barak, P., Cohen, H., Averbuch, I. E., Grinshpoon, A., Gritsenko, I. *et al.* (1999) Homicidal behavior in schizophrenia associated with a genetic polymorphism determining low catechol O-methyltransferase (COMT) activity. *Am J Med Genet* **88**: 628-633.
- Krause, J., Dresel, S. H., Krause, K. H., La Fougere, C., Zill, P., i Ackenheil, M. (2006) Striatal dopamine transporter availability and DAT-1 gene in adults with ADHD: no higher DAT availability in patients with homozygosity for the 10-repeat allele. *World J Biol Psychiatry* **7**: 152-157.
- Krause, K. H., Dresel, S. H., Krause, J., la Fougere, C., i Ackenheil, M. (2003) The dopamine transporter and neuroimaging in attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Biobehav Rev* **27**: 605-613.

- Krause, K. H., Dresel, S. H., Krause, J., Kung, H. F., i Tatsch, K. (2000) Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett* **285**: 107-110.
- Kunugi, H., Kawada, Y., Hattori, M., Ueki, A., Otsuka, M., i Nanko, S. (1998) Association study of structural mutations of the tyrosine hydroxylase gene with schizophrenia and Parkinson's disease. *Am J Med Genet* **81**: 131-133.
- Kunugi, H., Vallada, H. P., Hoda, F., Kirov, G., Gill, M., Aitchison, K. J. *et al.* (1997) No evidence for an association of affective disorders with high- or low-activity allele of catechol-o-methyltransferase gene. *Biol Psychiatry* **42**: 282-285.
- LaBar, K. S., Gatenby, J. C., Gore, J. C., LeDoux, J. E., i Phelps, E. A. (1998) Human amygdala activation during conditioned fear acquisition and extinction: a mixed-trial fMRI study. *Neuron* **20**: 937-945.
- Lachman, H. M., Papolos, D. F., Saito, T., Yu, Y. M., Szumlanski, C. L., i Weinshilboum, R. M. (1996) Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* **6**: 243-250.
- LaHoste, G. J., Swanson, J. M., Wigal, S. B., Glabe, C., Wigal, T., King, N., i Kennedy, J. L. (1996) Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry* **1**: 121-124.
- Lane, R. D., Reiman, E. M., Ahern, G. L., Schwartz, G. E., i Davidson, R. J. (1997) Neuroanatomical correlates of happiness, sadness, and disgust. *Am J Psychiatry* **154**: 926-933.
- Lange, K. W., Robbins, T. W., Marsden, C. D., James, M., Owen, A. M., i Paul, G. M. (1992) L-dopa withdrawal in Parkinson's disease selectively impairs cognitive performance in tests sensitive to frontal lobe dysfunction. *Psychopharmacology* **107**: 394-404.

- Laruelle, M., Kegeles, L. S., i Abi-Dargham, A. (2003) Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Ann N Y Acad Sci* **1003**: 138-158.
- Lawrence, A. D., Goerendt, I. K., i Brooks, D. J. (2007) Impaired recognition of facial expressions of anger in Parkinson's disease patients acutely withdrawn from dopamine replacement therapy. *Neuropsychologia* **45**: 65-74.
- Lawrence, A. D., Calder, A. J., McGowan, S. W., i Grasby, P. M. (2002) Selective disruption of the recognition of facial expressions of anger. *Neuroreport* **13**: 881-884.
- Lee, T., Seeman, P., Tourtellotte, W. W., Farley, I. J., i Hornykeiwicz, O. (1978) Binding of 3H-neuroleptics and 3H-apomorphine in schizophrenic brains. *Nature* **274**: 897-900.
- Levitt, M., Sprector, S., Sjoerdsma, A., i Udenfriend, S. (1965) Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused Guinea-pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* **148**: 1-8.
- Lewis, D. A., i Lieberman, J. A. (2000) Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron* **28**: 325-334.
- Lewis, D. A., Melchitzky, D. S., Sesack, S. R., Whitehead, R. E., Auh, S., i Sampson, A. (2001) Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: regional, laminar, and ultrastructural localization. *J Comp Neurol* **432**: 119-136.
- Lezak, M. D., Howieson, D. B., i Loring, D. W. (2004) *Neuropsychological Assessment*, 4th ed. Oxford Univ. Press, New York.
- Li, T., Ball, D., Zhao, J., Murray, R. M., Liu, X., Sham, P. C., i Collier, D. A. (2000) Family-based linkage disequilibrium mapping using SNP marker haplotypes: application to a potential locus for schizophrenia at chromosome 22q11. *Mol Psychiatry* **5**: 77-84.

- Lidow, M. S., Goldman-Rakic, P. S., Gallager, D. W., i Rakic, P. (1991) Distribution of dopaminergic receptors in the primate cerebral cortex: quantitative autoradiographic analysis using [3H]raclopride, [3H]spiperone and [3H]SCH23390. *Neuroscience* **40**: 657-671.
- Lie, C. H., Specht, K., Marshall, J. C., i Fink, G. R. (2006) Using fMRI to decompose the neural processes underlying the Wisconsin Card Sorting Test. *Neuroimage* **30**: 1038-1049.
- Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melen, K., Julkunen, I., i Taskinen, J. (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**: 4202-4210.
- Lundstrom, K., Tenhunen, J., Tilgmann, C., Karhunen, T., Panula, P., i Ulmanen, I. (1995) Cloning, expression and structure of catechol-O-methyltransferase. *Biochim Biophys Acta* **1251**: 1-10.
- Lynch, D. R., Mozley, P. D., Sokol, S., Maas, N. M., Balcer, L. J., i Siderowf, A. D. (2003) Lack of effect of polymorphisms in dopamine metabolism related genes on imaging of TRODAT-1 in striatum of asymptomatic volunteers and patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* **18**: 804-812.
- Ma, S. Y., Ciliax, B. J., Stebbins, G., Jaffar, S., Joyce, J. N., Cochran, E. J. *et al.* (1999) Dopamine transporter-immunoreactive neurons decrease with age in the human substantia nigra. *J Comp Neurol* **409**: 25-37.
- Macciardi, F., Verga, M., Kennedy, J. L., Petronis, A., Bersani, G., Pancheri, P., i Smeraldi, E. (1994) An association study between schizophrenia and the dopamine receptor genes DRD3 and DRD4 using haplotype relative risk. *Hum Hered* **44**: 328-336.
- Mackay, A. V., Iversen, L. L., Rossor, M., Spokes, E., Bird, E., Arregui, A. *et al.* (1982) Increased brain dopamine and dopamine receptors in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **39**: 991-997.

- Madras, B. K., Miller, G. M., i Fischman, A. J. (2005) The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* **57**: 1397-1409.
- Madras, B. K., Miller, G. M., i Fischman, A. J. (2002) The dopamine transporter: relevance to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Behav Brain Res* **130**: 57-63.
- Maj, J., Rogoz, Z., Skuza, G., Sowinska, H., i Superata, J. (1990) Behavioural and neurochemical effects of Ro 40-7592, a new COMT inhibitor with a potential therapeutic activity in Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 2*: 101-112.
- Malhotra, A. K., Kestler, L. J., Mazzanti, C., Bates, J. A., Goldberg, T., i Goldman, D. (2002) A functional polymorphism in the COMT gene and performance on a test of prefrontal cognition. *Am J Psychiatry* **159**: 652-654.
- Martinez, D., Gelernter, J., Abi-Dargham, A., van Dyck, C. H., Kegeles, L., Innis, R. B., i Laruelle, M. (2001) The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology* **24**: 553-560.
- Masson, J., Sagne, C., Hamon, M., i El Mestikawy, S. (1999) Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacol Rev* **51**: 439-464.
- 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**: 127-137.
- Mattay, V. S., i Goldberg, T. E. (2004) Imaging genetic influences in human brain function. *Curr Opin Neurobiol* **14**: 239-247.
- Mattay, V. S., Tessitore, A., Callicott, J. H., Bertolino, A., Goldberg, T. E., Chase, T. N. *et al.* (2002) Dopaminergic modulation of cortical function in patients with Parkinson's disease. *Ann Neurol* **51**: 156-164.

- Mattay, V. S., Goldberg, T. E., Fera, F., Hariri, A. R., Tessitore, A., Egan, M. F. *et al.* (2003) Catechol O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 6186-6191.
- Mattay, V. S., Callicott, J. H., Bertolino, A., Heaton, I., Frank, J. A., Coppola, R. *et al.* (2000) Effects of dextroamphetamine on cognitive performance and cortical activation. *Neuroimage* **12**: 268-275.
- McGrath, M., Kawachi, I., Ascherio, A., Colditz, G. A., Hunter, D. J., i De Vivo, I. (2004) Association between catechol-O-methyltransferase and phobic anxiety. *Am J Psychiatry* **161**: 1703-1705.
- McGuffin, P., Riley, B., i Plomin, R. (2001) Genomics and behavior. Toward behavioral genomics. *Science* **291**: 1232-1249.
- Mehta, M. A., Manes, F. F., Magnolfi, G., Sahakian, B. J., i Robbins, T. W. (2004) Impaired set-shifting and dissociable effects on tests of spatial working memory following the dopamine D2 receptor antagonist sulpiride in human volunteers. *Psychopharmacology* **176**: 331-342.
- Mehta, M. A., Owen, A. M., Sahakian, B. J., Mavaddat, N., Pickard, J. D., i Robbins, T. W. (2000) Methylphenidate enhances working memory by modulating discrete frontal and parietal lobe regions in the human brain. *J Neurosci* **20**: RC65.
- Meyer-Lindenberg, A., Nichols, T., Callicott, J. H., Ding, J., Kolachana, B., Buckholtz, J. *et al.* (2006) Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Mol Psychiatry* **11**: 867-877, 797.
- Michelhaugh, S. K., Fiskerstrand, C., Lovejoy, E., Bannon, M. J., i Quinn, J. P. (2001) The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. *J Neurochem* **79**: 1033-1038.
- Mill, J., Asherson, P., Browes, C., D'Souza, U., i 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. *Am J Med Genet* **114**: 975-979.
- Minzenberg, M. J., Xu, K., Mitropoulou, V., Harvey, P. D., Finch, T., Flory, J. D. *et al.* (2006) Catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype variation is associated with prefrontal-dependent task performance in schizotypal personality disorder patients and comparison groups. *Psychiatr Genet* **16**: 117-124.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., i Caron, M. G. (1998) Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* **78**: 189-225.
- Mizoguchi, K., Yuzurihara, M., Ishige, A., Sasaki, H., Chui, D. H., i Tabira, T. (2000) Chronic stress induces impairment of spatial working memory because of prefrontal dopaminergic dysfunction. *J Neurosci* **20**: 1568-1574.
- Monchi, O., Petrides, M., Petre, V., Worsley, K., i Dagher, A. (2001) Wisconsin Card Sorting revisited: distinct neural circuits participating in different stages of the task identified by event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* **21**: 7733-7741.
- Montaron, M. F., Bouyer, J. J., i Rougeul-Buser, A. (1979) Relationship between attention and mu rhythms in the cat and the monkey (author's transl). *Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin* **9**: 333-339.
- Montaron, M. F., Bouyer, J. J., Rougeul, A., i Buser, P. (1984) Unit activity in the ventral tegmental area and the state of focused attention in the normal awake cat. *C R Acad Sci III* **298**: 229-236.
- Montaron, M. F., Bouyer, J. J., Rougeul, A., i Buser, P. (1982) Ventral mesencephalic tegmentum (VMT) controls electrocortical beta rhythms and associated attentive behaviour in the cat. *Behav Brain Res* **6**: 129-145.
- Moore, T. L., Killiany, R. J., Herndon, J. G., Rosene, D. L., i Moss, M. B. (2003) Impairment in abstraction and set shifting in aged rhesus monkeys. *Neurobiol Aging* **24**: 125-134.

- Morgan, M. A., i LeDoux, J. E. (1999) Contribution of ventrolateral prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Neurobiol Learn Mem* **72**: 244-251.
- Moron, J. A., Brockington, A., Wise, R. A., Rocha, B. A., i Hope, B. T. (2002) Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J Neurosci* **22**: 389-395.
- Morris, J. S., i Dolan, R. J. (2004) Dissociable amygdala and orbitofrontal responses during reversal fear conditioning. *Neuroimage* **22**: 372-380.
- Morris, J. S., Ohman, A., i Dolan, R. J. (1998) Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala. *Nature* **393**: 467-470.
- Morris, J. S., Frith, C. D., Perrett, D. I., Rowland, D., Young, A. W., Calder, A. J., i Dolan, R. J. (1996) A differential neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature* **383**: 812-815.
- Morrow, B. A., Roth, R. H., i Elsworth, J. D. (2000) TMT, a predator odor, elevates mesoprefrontal dopamine metabolic activity and disrupts short-term working memory in the rat. *Brain Res Bull* **52**: 519-523.
- Murphy, B. L., Arnsten, A. F., Goldman-Rakic, P. S., i Roth, R. H. (1996) Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 1325-1329.
- Nagatsu, T., Levitt, M., i Udenfriend, S. (1964) Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. *J Biol Chem* **239**: 2910-2917.
- Napolitano, A., Bellini, G., Borroni, E., Zurcher, G., i Bonuccelli, U. (2003) Effects of peripheral and central catechol-O-methyltransferase inhibition on striatal extracellular levels of dopamine: a microdialysis study in freely moving rats. *Parkinsonism Relat Disord* **9**: 145-150.

- Negyessy, L., i Goldman-Rakic, P. S. (2005) Subcellular localization of the dopamine D2 receptor and coexistence with the calcium-binding protein neuronal calcium sensor-1 in the primate prefrontal cortex. *J Comp Neurol* **488**: 464-475.
- Nieoullon, A. (2002) Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Prog Neurobiol* **67**: 53-83.
- Nirenberg, M. J., Vaughan, R. A., Uhl, G. R., Kuhar, M. J., i Pickel, V. M. (1996) The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Neurosci* **16**: 436-447.
- Noesselt, T., Driver, J., Heinze, H. J., i Dolan, R. (2005) Asymmetrical activation in the human brain during processing of fearful faces. *Curr Biol* **15**: 424-429.
- Numata, S., Ueno, S., Iga, J., Yamauchi, K., Hongwei, S., Kinouchi, S. *et al.* (2007) Interaction between catechol-O-methyltransferase (COMT) Val108/158Met and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphisms in age at onset and clinical symptoms in schizophrenia. *J Neural Transm* **114**: 255-259.
- Ohara, K., Nagai, M., Suzuki, Y., i Ohara, K. (1998a) Low activity allele of catechol-o-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport* **9**: 1305-1308.
- Ohara, K., Nagai, M., Suzuki, Y., Ochiai, M., i Ohara, K. (1998b) No association between anxiety disorders and catechol-O-methyltransferase polymorphism. *Psychiatry Res* **80**: 145-148.
- Ohmori, O., Shinkai, T., Kojima, H., Terao, T., Suzuki, T., Mita, T., i Abe, K. (1998) Association study of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in Japanese schizophrenics. *Neurosci Lett* **243**: 109-112.
- Okubo, Y., Suhara, T., Suzuki, K., Kobayashi, K., Inoue, O., Terasaki, O. *et al.* (1997) Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET. *Nature* **385**: 634-636.

- Olsson, C. A., Anney, R. J., Lotfi-Miri, M., Byrnes, G. B., Williamson, R., i Patton, G. C. (2005) Association between the COMT Val158Met polymorphism and propensity to anxiety in an Australian population-based longitudinal study of adolescent health. *Psychiatr Genet* **15**: 109-115.
- Paolo, A. M., Axelrod, B. N., Troster, A. I., Blackwell, K. T., i Koller, W. C. (1996) Utility of a Wisconsin Card Sorting Test short form in persons with Alzheimer's and Parkinson's disease. *J Clin Exp Neuropsychol* **18**: 892-897.
- Papoulos, D. F., Veit, S., Faedda, G. L., Saito, T., i Lachman, H. M. (1998) Ultra-ultra rapid cycling bipolar disorder is associated with the low activity catecholamine-O-methyltransferase allele. *Mol Psychiatry* **3**: 346-349.
- Peters, A., i Jones, E. (1987) Cerebral Cortex. Vol 6. Further aspects of cortical function, including hippocampus. Nova York. Plenum Press.
- Phan, K. L., Wager, T., Taylor, S. F., i Liberzon, I. (2002) Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. *Neuroimage* **16**: 331-348.
- Phelps, E. A., i Anderson, A. K. (1997) Emotional memory: what does the amygdala do? *Curr Biol* **7**: R311-4.
- Phelps, E. A., O'Connor, K. J., Gatenby, J. C., Gore, J. C., Grillon, C., i Davis, M. (2001) Activation of the left amygdala to a cognitive representation of fear. *Nat Neurosci* **4**: 437-441.
- Phillips, M. L., Drevets, W. C., Rauch, S. L., i Lane, R. (2003) Neurobiology of emotion perception I: The neural basis of normal emotion perception. *Biol Psychiatry* **54**: 504-514.
- Phillips, M. L., Medford, N., Young, A. W., Williams, L., Williams, S. C., Bullmore, E. T. *et al.* (2001) Time courses of left and right amygdalar responses to fearful facial expressions. *Hum Brain Mapp* **12**: 193-202.

- Phillips, M. L., Young, A. W., Scott, S. K., Calder, A. J., Andrew, C., Giampietro, V. *et al.* (1998) Neural responses to facial and vocal expressions of fear and disgust. *Proc Biol Sci* **265**: 1809-1817.
- Phillips, M. L., Young, A. W., Senior, C., Brammer, M., Andrew, C., Calder, A. J. *et al.* (1997) A specific neural substrate for perceiving facial expressions of disgust. *Nature* **389**: 495-498.
- Piccini, P. P. (2003) Dopamine transporter: basic aspects and neuroimaging. *Mov Disord* **18 Suppl 7**: S3-8.
- Pickel, V. M., Garzon, M., i Mengual, E. (2002) Electron microscopic immunolabeling of transporters and receptors identifies transmitter-specific functional sites envisioned in Cajal's neuron. *Prog Brain Res* **136**: 145-155.
- Pierri, J. N., Volk, C. L., Auh, S., Sampson, A., i Lewis, D. A. (2001) Decreased somal size of deep layer 3 pyramidal neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **58**: 466-473.
- Pliszka, S. R. (2005) The neuropsychopharmacology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* **57**: 1385-1390.
- Pycock, C. J., Kerwin, R. W., i Carter, C. J. (1980) Effect of lesion of cortical dopamine terminals on subcortical dopamine receptors in rats. *Nature* **286**: 74-76.
- Reiman, E. M., Lane, R. D., Ahern, G. L., Schwartz, G. E., Davidson, R. J., Friston, K. J. *et al.* (1997) Neuroanatomical correlates of externally and internally generated human emotion. *Am J Psychiatry* **154**: 918-925.
- Reuter, M., Schmitz, A., Corr, P., i Hennig, J. (2006) Molecular genetics support Gray's personality theory: the interaction of COMT and DRD2 polymorphisms predicts the behavioural approach system. *Int J Neuropsychopharmacol* **9**: 155-166.

- Reuter, M., Peters, K., Schroeter, K., Koebke, W., Lenardon, D., Bloch, B., i Hennig, J. (2005) The influence of the dopaminergic system on cognitive functioning: A molecular genetic approach. *Behav Brain Res* **164**: 93-99.
- Riley, B., i Kendler, K. S. (2006) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Eur J Hum Genet* **14**: 669-680.
- Rinne, J. O. (1987) Muscarinic and dopaminergic receptors in the aging human brain. *Brain Res* **404**: 162-168.
- Rinne, J. O., Lonnberg, P., i Marjamaki, P. (1990) Age-dependent decline in human brain dopamine D1 and D2 receptors. *Brain Res* **508**: 349-352.
- Robbins, T. W. (2005) Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J Comp Neurol* **493**: 140-146.
- Robinson, T. E., i Berridge, K. C. (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* **18**: 247-291.
- Rosa, A., Peralta, V., Cuesta, M. J., Zarzuela, A., Serrano, F., Martinez-Larrea, A., i Fananas, L. (2004) New evidence of association between COMT gene and prefrontal neurocognitive function in healthy individuals from sibling pairs discordant for psychosis. *Am J Psychiatry* **161**: 1110-1112.
- Rosenkranz, J. A., i Grace, A. A. (1999) Modulation of basolateral amygdala neuronal firing and afferent drive by dopamine receptor activation in vivo. *J Neurosci* **19**: 11027-11039.
- Rothe, C., Koszycki, D., Bradwejn, J., King, N., Deluca, V., Tharmalingam, S. et al. (2006) Association of the Val158Met catechol O-methyltransferase genetic polymorphism with panic disorder. *Neuropsychopharmacology* **31**: 2237-2242.
- Rotondo, A., Mazzanti, C., Dell'Osso, L., Rucci, P., Sullivan, P., Bouanani, S. et al. (2002) Catechol o-methyltransferase, serotonin transporter, and

- tryptophan hydroxylase gene polymorphisms in bipolar disorder patients with and without comorbid panic disorder. *Am J Psychiatry* **159**: 23-29.
- Rowe, D. C., Stever, C., Giedinghagen, L. N., Gard, J. M., Cleveland, H. H., Terris, S. T. *et al.* (1998) Dopamine DRD4 receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry* **3**: 419-426.
- Rutherford, K., Bennion, B. J., Parson, W. W., i Daggett, V. (2006) The 108M polymorph of human catechol O-methyltransferase is prone to deformation at physiological temperatures. *Biochemistry* **45**: 2178-2188.
- Salgado-Pineda, P., Delaveau, P., Blin, O., i Nieoullon, A. (2005) Dopaminergic contribution to the regulation of emotional perception. *Clin Neuropharmacol* **28**: 228-237.
- Sano, A., Kondoh, K., Kakimoto, Y., i Kondo, I. (1993) A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* **91**: 405-406.
- Sawaguchi, T., i Goldman-Rakic, P. S. (1994) The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task. *J Neurophysiol* **71**: 515-528.
- Sawaguchi, T., i Goldman-Rakic, P. S. (1991) D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* **251**: 947-950.
- Sawaguchi, T., Matsumura, M., i Kubota, K. (1988) Dopamine enhances the neuronal activity of spatial short-term memory task in the primate prefrontal cortex. *Neurosci Res* **5**: 465-473.
- Scanlon, P. D., Raymond, F. A., i Weinshilboum, R. M. (1979) Catechol-O-methyltransferase: thermolabile enzyme in erythrocytes of subjects homozygous for allele for low activity. *Science* **203**: 63-65.

- Schienze, A., Stark, R., Walter, B., Blecker, C., Ott, U., Kirsch, P. *et al.* (2002) The insula is not specifically involved in disgust processing: an fMRI study. *Neuroreport* **13**: 2023-2026.
- Schneider, F., Gur, R. C., Koch, K., Backes, V., Amunts, K., Shah, N. J. *et al.* (2006) Impairment in the specificity of emotion processing in schizophrenia. *Am J Psychiatry* **163**: 442-447.
- Schott, B. H., Seidenbecher, C. I., Fenker, D. B., Lauer, C. J., Bunzeck, N., Bernstein, H. G. *et al.* (2006) The dopaminergic midbrain participates in human episodic memory formation: evidence from genetic imaging. *J Neurosci* **26**: 1407-1417.
- Scott, S. K., Young, A. W., Calder, A. J., Hellawell, D. J., Aggleton, J. P., i Johnson, M. (1997) Impaired auditory recognition of fear and anger following bilateral amygdala lesions. *Nature* **385**: 254-257.
- Seamans, J. K., i Yang, C. R. (2004) The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol* **74**: 1-58.
- Seeman, P., Bzowej, N. H., Guan, H. C., Bergeron, C., Reynolds, G. P., Bird, E. D. *et al.* (1987) Human brain D1 and D2 dopamine receptors in schizophrenia, Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's diseases. *Neuropsychopharmacology* **1**: 5-15.
- Selemon, L. D., Rajkowska, G., i Goldman-Rakic, P. S. (1995) Abnormally high neuronal density in the schizophrenic cortex. A morphometric analysis of prefrontal area 9 and occipital area 17. *Arch Gen Psychiatry* **52**: 805-18; discussion 819-20.
- Sesack, S. R., Hawrylak, V. A., Matus, C., Guido, M. A., i Levey, A. I. (1998) Dopamine axon varicosities in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *J Neurosci* **18**: 2697-2708.
- Shakow, D. (1962) Segmental set. *Arch Gen Psychiatry* **6**: 1-17.

- Shenker, A. (1992) The mechanism of action of drugs used to treat attention-deficit hyperactivity disorder: focus on catecholamine receptor pharmacology. *Adv Pediatr* **39**: 337-382.
- Shifman, S., Bronstein, M., Sternfeld, M., Pisante-Shalom, A., Lev-Lehman, E., Weizman, A. *et al.* (2002) A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71**: 1296-1302.
- Siervogel, R. M., Weinshilboum, R., Wilson, A. F., i Elston, R. C. (1984) Major gene model for the inheritance of catechol-O-methyltransferase activity in five large families. *Am J Med Genet* **19**: 315-323.
- Singh, S. D., Ellis, C. R., Winton, A. S., Singh, N. N., Leung, J. P., i Oswald, D. P. (1998) Recognition of facial expressions of emotion by children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Behav Modif* **22**: 128-142.
- Smolka, M. N., Schumann, G., Wrase, J., Grusser, S. M., Flor, H., Mann, K. *et al.* (2005) Catechol-O-methyltransferase val158met genotype affects processing of emotional stimuli in the amygdala and prefrontal cortex. *J Neurosci* **25**: 836-842.
- Sobell, J. L., Lind, T. J., Sigurdson, D. C., Zald, D. H., Snitz, B. E., Grove, W. M. *et al.* (1995) The D5 dopamine receptor gene in schizophrenia: identification of a nonsense change and multiple missense changes but lack of association with disease. *Hum Mol Genet* **4**: 507-514.
- Solanto, M. V. (2002) Dopamine dysfunction in AD/HD: integrating clinical and basic neuroscience research. *Behav Brain Res* **130**: 65-71.
- Speight, G., Turic, D., Austin, J., Hoogendoorn, B., Cardno, A. G., Jones, L. *et al.* (2000) Comparative sequencing and association studies of aromatic L-amino acid decarboxylase in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* **5**: 327-331.
- Spielman, R. S., i Weinshilboum, R. M. (1981) Genetics of red cell COMT activity: analysis of thermal stability and family data. *Am J Med Genet* **10**: 279-290.

- Sprengelmeyer, R., Rausch, M., Eysel, U. T., i Przuntek, H. (1998) Neural structures associated with recognition of facial expressions of basic emotions. *Proc Biol Sci* **265**: 1927-1931.
- Sprengelmeyer, R., Young, A. W., Mahn, K., Schroeder, U., Voitalla, D., Buttner, T. *et al.* (2003) Facial expression recognition in people with medicated and unmedicated Parkinson's disease. *Neuropsychologia* **41**: 1047-1057.
- Spurlock, G., Williams, J., McGuffin, P., Aschauer, H. N., Lenzinger, E., Fuchs, K. *et al.* (1998) European Multicentre Association Study of Schizophrenia: a study of the DRD2 Ser311Cys and DRD3 Ser9Gly polymorphisms. *Am J Med Genet* **81**: 24-28.
- Stahl, S. M. (2003) Neurotransmission of cognition, part 1, Dopamine is a hitchhiker in frontal cortex: norepinephrine transporters regulate dopamine. *J Clin Psychiatry* **64**: 4-5.
- Suhara, T., Fukuda, H., Inoue, O., Itoh, T., Suzuki, K., Yamasaki, T., i Tateno, Y. (1991) Age-related changes in human D1 dopamine receptors measured by positron emission tomography. *Psychopharmacology* **103**: 41-45.
- Swanson, J. M., Sunohara, G. A., Kennedy, J. L., Regino, R., Fineberg, E., Wigal, T. *et al.* (1998) Association of the dopamine receptor D4 (DRD4) gene with a refined phenotype of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a family-based approach. *Mol Psychiatry* **3**: 38-41.
- Szoke, A., Schurhoff, F., Meary, A., Mathieu, F., Chevalier, F., Trandafir, A. *et al.* (2006) Lack of influence of COMT and NET genes variants on executive functions in schizophrenic and bipolar patients, their first-degree relatives and controls. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **141**: 504-512.
- Takahashi, H., Yahata, N., Koeda, M., Takano, A., Asai, K., Suhara, T., i Okubo, Y. (2005) Effects of dopaminergic and serotonergic manipulation on emotional processing: a pharmacological fMRI study. *Neuroimage* **27**: 991-1001.

- Tassin, J. P., Stinus, L., Simon, H., Blanc, G., Thierry, A. M., Le Moal, M. *et al.* (1978) Relationship between the locomotor hyperactivity induced by A10 lesions and the destruction of the fronto-cortical dopaminergic innervation in the rat. *Brain Res* **141**: 267-281.
- Taylor, A. E., Saint-Cyr, J. A., i Lang, A. E. (1990) Memory and learning in early Parkinson's disease: evidence for a "frontal lobe syndrome". *Brain Cogn* **13**: 211-232.
- Teicher, M. H., Anderson, C. M., Polcari, A., Glod, C. A., Maas, L. C., i Renshaw, P. F. (2000) Functional deficits in basal ganglia of children with attention-deficit/hyperactivity disorder shown with functional magnetic resonance imaging relaxometry. *Nat Med* **6**: 470-473.
- Tenhunen, J., Salminen, M., Lundstrom, K., Kiviluoto, T., Savolainen, R., i Ulmanen, I. (1994) Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem* **223**: 1049-1059.
- Tessitore, A., Hariri, A. R., Fera, F., Smith, W. G., Chase, T. N., Hyde, T. M. *et al.* (2002) Dopamine modulates the response of the human amygdala: a study in Parkinson's disease. *J Neurosci* **22**: 9099-9103.
- Thapar, A., O'Donovan, M., i Owen, M. J. (2005) The genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Hum Mol Genet* **14 Spec No. 2**: R275-82.
- Thierry, A. M., Tassin, J. P., Blanc, G., i Glowinski, J. (1976) Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* **263**: 242-244.
- Torres, G. E. (2006) The dopamine transporter proteome. *J Neurochem* **97 Suppl 1**: 3-10.
- Toru, M., Watanabe, S., Shibuya, H., Nishikawa, T., Noda, K., Mitsushio, H. *et al.* (1988) Neurotransmitters, receptors and neuropeptides in post-mortem brains of chronic schizophrenic patients. *Acta Psychiatr Scand* **78**: 121-137.

- Tsai, S. J., Yu, Y. W., Chen, T. J., Chen, J. Y., Liou, Y. J., Chen, M. C., i Hong, C. J. (2003) Association study of a functional catechol-O-methyltransferase-gene polymorphism and cognitive function in healthy females. *Neurosci Lett* **338**: 123-126.
- Tunbridge, E. M., Harrison, P. J., i Weinberger, D. R. (2006) Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* **60**: 141-151.
- Tunbridge, E. M., Bannerman, D. M., Sharp, T., i Harrison, P. J. (2004) Catechol-o-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex. *J Neurosci* **24**: 5331-5335.
- Turner, R., Howseman, A., Rees, G. E., Josephs, O., i Friston, K. (1998) Functional magnetic resonance imaging of the human brain: data acquisition and analysis. *Exp Brain Res* **123**: 5-12.
- Tzschentke, T. M. (2001) Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog Neurobiol* **63**: 241-320.
- Uhl, G. R. (2003) Dopamine transporter: basic science and human variation of a key molecule for dopaminergic function, locomotion, and parkinsonism. *Mov Disord* **18 Suppl 7**: S71-80.
- van Dyck, C. H., Malison, R. T., Jacobsen, L. K., Seibyl, J. P., Staley, J. K., Laruelle, M. *et al.* (2005) Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J Nucl Med* **46**: 745-751.
- Vandenbergh, D. J., Persico, A. M., Hawkins, A. L., Griffin, C. A., Li, X., Jabs, E. W., i Uhl, G. R. (1992) Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* **14**: 1104-1106.
- Vandenbergh, D. J., Thompson, M. D., Cook, E. H., Bendahhou, E., Nguyen, T., Krasowski, M. D. *et al.* (2000) Human dopamine transporter gene: coding region conservation among normal, Tourette's disorder, alcohol

- dependence and attention-deficit hyperactivity disorder populations. *Mol Psychiatry* **5**: 283-292.
- VanNess, S. H., Owens, M. J., i Kilts, C. D. (2005) The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet* **6**: 55.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., i Ding, Y. S. (2005) Imaging the effects of methylphenidate on brain dopamine: new model on its therapeutic actions for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* **57**: 1410-1415.
- Volkow, N. D., Gur, R. C., Wang, G. J., Fowler, J. S., Moberg, P. J., Ding, Y. S. *et al.* (1998) Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am J Psychiatry* **155**: 344-349.
- Volkow, N. D., Wang, G., Fowler, J. S., Logan, J., Gerasimov, M., Maynard, L. *et al.* (2001) Therapeutic doses of oral methylphenidate significantly increase extracellular dopamine in the human brain. *J Neurosci* **21**: RC121.
- Volkow, N. D., Logan, J., Fowler, J. S., Wang, G. J., Gur, R. C., Wong, C. *et al.* (2000) Association between age-related decline in brain dopamine activity and impairment in frontal and cingulate metabolism. *Am J Psychiatry* **157**: 75-80.
- Von Huben, S. N., Davis, S. A., Lay, C. C., Katner, S. N., Crean, R. D., i Taffe, M. A. (2006) Differential contributions of dopaminergic D(1)- and D (2)-like receptors to cognitive function in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* **188**: 586-596.
- Waldman, I. D., Rowe, D. C., Abramowitz, A., Kozel, S. T., Mohr, J. H., Sherman, S. L. *et al.* (1998) Association and linkage of the dopamine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder in children: heterogeneity owing to diagnostic subtype and severity. *Am J Hum Genet* **63**: 1767-1776.

- Wang, M., Vijayraghavan, S., i Goldman-Rakic, P. S. (2004) Selective D2 receptor actions on the functional circuitry of working memory. *Science* **303**: 853-856.
- Wayment, H. K., Schenk, J. O., i Sorg, B. A. (2001) Characterization of extracellular dopamine clearance in the medial prefrontal cortex: role of monoamine uptake and monoamine oxidase inhibition. *J Neurosci* **21**: 35-44.
- Weinberger, D. R. (1987) Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **44**: 660-669.
- Weiner, D. M., Levey, A. I., Sunahara, R. K., Niznik, H. B., O'Dowd, B. F., Seeman, P., i Brann, M. R. (1991) D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**: 1859-1863.
- Weinshilboum, R., i Dunnette, J. (1981) Thermal stability and the biochemical genetics of erythrocyte catechol-O-methyl-transferase and plasma dopamine-beta-hydroxylase. *Clin Genet* **19**: 426-437.
- Weinshilboum, R. M. (2006) Pharmacogenomics: catechol O-methyltransferase to thiopurine S-methyltransferase. *Cell Mol Neurobiol* **26**: 539-561.
- Weinshilboum, R. M., Otterness, D. M., i Szumlanski, C. L. (1999) Methylation pharmacogenetics: catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine N-methyltransferase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **39**: 19-52.
- Weiss, E. M., Stadelmann, E., Kohler, C. G., Brensinger, C. M., Nolan, K. A., Oberacher, H. *et al.* (2007) Differential effect of catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype on emotional recognition abilities in healthy men and women. *J Int Neuropsychol Soc* **13**: 881-887.
- Whalen, P. J., Rauch, S. L., Etcoff, N. L., McInerney, S. C., Lee, M. B., i Jenike, M. A. (1998) Masked presentations of emotional facial expressions modulate amygdala activity without explicit knowledge. *J Neurosci* **18**: 411-418.

- Wichmann, T., i DeLong, M. R. (1996) Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* **6**: 751-758.
- Wilkinson, L. S. (1997) The nature of interactions involving prefrontal and striatal dopamine systems. *J Psychopharmacol* **11**: 143-150.
- Williams, G. V., i Castner, S. A. (2006) Under the curve: critical issues for elucidating D1 receptor function in working memory. *Neuroscience* **139**: 263-276.
- Williams, G. V., i Goldman-Rakic, P. S. (1995) Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature* **376**: 572-575.
- Williams, H. J., Glaser, B., Williams, N. M., Norton, N., Zammit, S., MacGregor, S. *et al.* (2005) No association between schizophrenia and polymorphisms in COMT in two large samples. *Am J Psychiatry* **162**: 1736-1738.
- Winstanley, C. A., Eagle, D. M., i Robbins, T. W. (2006) Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin Psychol Rev* **26**: 379-395.
- Witt, K., Daniels, C., Daniel, V., Schmitt-Eliassen, J., Volkmann, J., i Deuschl, G. (2006) Patients with Parkinson's disease learn to control complex systems-an indication for intact implicit cognitive skill learning. *Neuropsychologia* **44**: 2445-2451.
- Wonodi, I., Stine, O. C., Mitchell, B. D., Buchanan, R. W., i Thaker, G. K. (2003) Association between Val108/158 Met polymorphism of the COMT gene and schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **120**: 47-50.
- Woo, J. M., Yoon, K. S., Choi, Y. H., Oh, K. S., Lee, Y. S., i Yu, B. H. (2004) The association between panic disorder and the L/L genotype of catechol-O-methyltransferase. *J Psychiatr Res* **38**: 365-370.
- Wright, C. I., Martis, B., McMullin, K., Shin, L. M., i Rauch, S. L. (2003) Amygdala and insular responses to emotionally valenced human faces in small animal specific phobia. *Biol Psychiatry* **54**: 1067-1076.

- Wright, C. I., Fischer, H., Whalen, P. J., McInerney, S. C., Shin, L. M., i Rauch, S. L. (2001) Differential prefrontal cortex and amygdala habituation to repeatedly presented emotional stimuli. *Neuroreport* **12**: 379-383.
- Wright, P., He, G., Shapira, N. A., Goodman, W. K., i Liu, Y. (2004) Disgust and the insula: fMRI responses to pictures of mutilation and contamination. *Neuroreport* **15**: 2347-2351.
- Xu, H., Kellendonk, C. B., Simpson, E. H., Keilp, J. G., Bruder, G. E., Polan, H. J. *et al.* (2007) DRD2 C957T polymorphism interacts with the COMT Val158Met polymorphism in human working memory ability. *Schizophr Res* **90**: 104-107.
- Yang, B., Chan, R. C., Jing, J., Li, T., Sham, P., i Chen, R. Y. (2007) A meta-analysis of association studies between the 10-repeat allele of a VNTR polymorphism in the 3'-UTR of dopamine transporter gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **144**: 541-550.
- Yang, P., Chung, L. C., Chen, C. S., i Chen, C. C. (2004) Rapid improvement in academic grades following methylphenidate treatment in attention-deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* **58**: 37-41.
- Zahrt, J., Taylor, J. R., Mathew, R. G., i Arnsten, A. F. (1997) Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci* **17**: 8528-8535.
- Zola-Morgan, S., Squire, L. R., Alvarez-Royo, P., i Clower, R. P. (1991) Independence of memory functions and emotional behavior: separate contributions of the hippocampal formation and the amygdala. *Hippocampus* **1**: 207-220.

ANNEX

Impact of the COMT Val^{108/158} Met and DAT genotypes on prefrontal function in healthy subjects

Xavier Caldú,^{a,b} Pere Vendrell,^{a,b,*} David Bartrés-Faz,^{a,b} Inmaculada Clemente,^a Núria Bargalló,^{b,c} María Ángeles Jurado,^a Josep Maria Serra-Grabulosa,^a and Carme Junqué^{a,b}

^aDepartment of Psychiatry and Clinical Psychobiology, University of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Casanova, 143, 08036 Barcelona, Spain

^bInstitut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain

^cDepartment of Radiology, Centre de Diagnòstic per la Imatge (CDI), Hospital Clínic de Barcelona, Villarroel, 170, 08036 Barcelona, Spain

Received 1 March 2007; revised 13 June 2007; accepted 23 June 2007

Available online 4 July 2007

Two limiting factors of dopamine activity are the catechol-*o*-methyltransferase (COMT) and the dopamine transporter (DAT), which terminate dopamine activity by degradation and uptake, respectively. Genetic variants of COMT and DAT have been related to the enzymatic activity and protein availability, respectively. The Met allele of the COMT Val^{108/158} Met polymorphism has been associated to lower enzymatic activity and the 9-repeat allele of the DAT 40 base-pair (bp) variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism has been related to lower protein availability. Genotypes for COMT and DAT were determined in a sample of 75 healthy subjects, who underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) while performing an *N*-back task. To further assess the effects of the genotypes on cognition, subjects were administered the Wisconsin Card Sorting Test (WCST) and the Continuous Performance Test (CPT). Analysis of fMRI data revealed an additive effect of these two genes on brain activation in an *N*-back task, with subjects homozygous for the Val and the 9-repeat alleles showing the highest activation for the same level of performance. Moreover, the Val allele was related to higher number of perseverative errors on the WCST and with a higher number of commission errors on the CPT. The 10-repeat allele was associated with faster reaction times but also with a higher number of commission errors. Our results support a role of the COMT Val^{108/158} Met and the DAT 40 bp VNTR in both brain activation and cognition. © 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

The role of dopamine in modulating prefrontal cortex function has been reported in several studies (Braver et al., 1999; Mattay et al., 2002; Cropley et al., 2006). Both catechol-*o*-methyltransferase

(COMT) and dopamine transporter (DAT) terminate dopamine activity (by degradation and reuptake, respectively), and they thus regulate dopamine availability. COMT is a methylation enzyme that metabolizes dopamine released to the synaptic space (Weinshilboum et al., 1999). A missense mutation in the COMT gene leads to a functional polymorphism that yields two variants of the enzyme, the Val high-activity and the Met low-activity enzymes (Lotta et al., 1995; Lachman et al., 1996; Chen et al., 2004), related to lower and higher levels of synaptic dopamine availability, respectively.

The DAT human gene displays a polymorphic 40-base pair (bp) variable number of tandem repeat (VNTR). This polymorphism consists of a repetition of 40 bp that yields several alleles ranging from 3 to 11 repeats (Vandenberg et al., 1992), alleles of 9 and 10 repeats being the most common (Kang et al., 1999). The DAT polymorphism is located in a non-coding region of the gene and, although it does not affect the protein's structure (Vandenberg et al., 2000), it has been found to act as a modulator of gene transcription. The 10-repeat allele has been related to higher levels of expression of the gene (Heinz et al., 2000; Fuke et al., 2001; Mill et al., 2002; VanNess et al., 2005), although other studies have reported higher levels of transcription associated with the 9-repeat allele (Van Dyck et al., 2005) or no association between the VNTR and DAT density (Martínez et al., 2001).

Some studies have reported an association between the Val allele of COMT and a poorer performance in executive functioning in healthy subjects (Egan et al., 2001; Malhotra et al., 2002; Bruder et al., 2005; De Frias et al., 2005), in schizophrenic patients (Egan et al., 2001; Joober et al., 2002) and in their healthy siblings (Egan et al., 2001; Rosa et al., 2004). The DAT 10-repeat allele has been associated with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms and with measures of selective attention and response inhibition (Cornish et al., 2005). Studies using functional imaging techniques have reported a genotype effect of COMT (Egan et al., 2001; Ho et al., 2005) and DAT (Bertolino et al., 2006) on frontal lobe activation during the performance of the *N*-back task, the

* Corresponding author. Department of Psychiatry and Clinical Psychobiology, University of Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Casanova, 143, 08036 Barcelona, Spain. Fax: +34 93 403 52 94.

E-mail address: pvendrell@ub.edu (P. Vendrell).

Available online on ScienceDirect (www.sciencedirect.com).

most focused response, defined as less activation for similar performance, being shown by Met/Met and 10/10 subjects.

In the present work we studied the influence of COMT and DAT genotypes on brain activation and prefrontal functions in a sample of healthy subjects with no family history of psychotic disorders. Given the implication of dopaminergic transmission in executive functioning and according to the above mentioned previous literature we hypothesized that carriers of the Met allele of the COMT genotype will show less cerebral activation than carriers of the Val allele, with similar performance on the *N*-back task. We also expect that Met allele carriers will have better cognitive performance on prefrontal cognitive functions. In respect to the DAT polymorphism, we hypothesized that 9-repeat allele carriers will present a greater cerebral activation than 10-repeat allele carriers and also better performance on prefrontal cognitive tasks.

Materials and methods

Participants

Seventy-five healthy undergraduate students [45 females; age range 18–22, mean (\pm S.D.) 19.6 (1.7)] recruited from the University of Barcelona. In order to minimize ethnicity effects we included only subjects of European descent and excluded all subjects with other ancestry. Participants were screened using the Structured Clinical Interview for DSM-IV, Non Patient version (First et al., 1998), by trained evaluators blind to subjects' genotype, in order to rule out possible psychopathologies.

Ninety-one subjects were initially screened. Given the low number of DAT 9/9 subjects, 88 additional volunteers were genotyped and 13 DAT 9/9 subjects added to the sample. Twenty-nine of these 104 subjects were rejected for the following reasons: 5 had a history of psychiatric or neurological illness, 7 refused to be scanned, 7 were discarded due to acquisition problems and 3 subjects because they did not reach a minimum score of 75% correct responses on the *N*-back task. Seven subjects with DAT genotypes other than 9/9, 9/10 or 10/10 were not included in the study. Subjects recruited from the second series were comparable in terms of age ($t=-0.121$; $p=0.947$), sex ($\chi^2=2.182$; $p=0.333$), Vocabulary score ($t=0.906$; $p=0.717$), and COMT genotype distribution ($\chi^2=0.686$; $p=0.576$) to those obtained from the first series.

The study was approved by the ethics committee of the University of Barcelona. Written consent was obtained from all participants, who were financially rewarded for their participation.

Genotyping

The genotypes for COMT and DAT were obtained following the procedures described by Lachman et al. (1996) and Sano et al. (1993), respectively. Briefly, for the COMT Val^{108/158} Met polymorphism the fragment of 217 bp obtained was incubated for one night with the restriction enzyme *Nla*III. This enzyme recognizes two restriction targets in the COMT^L allele (Met-108), which yields three DNA fragments of 40, 81 and 96 bp, and recognizes only one in the COMT^H allele (Val-108), which yields two DNA fragments of 81 and 136 bp.

For the DAT genotype, the resulting fragments consist of 280 bp when they contain five repeats, 320 bp if they contain six repeats, 360 bp for seven repeats, 400 bp for eight, 440 bp

for nine, 480 bp for ten, 520 bp for eleven and 600 bp for thirteen.

Cognitive tests and analysis

For the assessment of prefrontal functions putatively related to dopamine regulation effects, we selected three tests: Wisconsin Card Sorting Test (WCST), *N*-Back test and Continuous Performance Test (CPT). All these tests have been demonstrated to be impaired in neurological and psychiatric illnesses involving the dopaminergic system, such as Parkinson's disease (Paolo et al., 1996; Witt et al., 2006), schizophrenia (Egan et al., 2001; Jooper et al., 2002) and attention deficit hyperactivity disorder (Epstein et al., 2003). Previous studies on the effects of genes related to dopaminergic functions have proved the sensitivity of WCST, *N*-Back and CPT (Egan et al., 2001; Bertolino et al., 2006; Kieling et al., 2006).

A computerized version of the CPT (Conners' CPT II, Version 5 for Windows, Psychological Assessment Resources, Inc., Lutz, FL) and the WCST 64-Card Version (Psychological Assessment Resources, Inc., Lutz, FL) were administered to all participants. The CPT is an attention test in which subjects must attend to a series of stimuli (i.e., capital letters) and respond to all of them but one (i.e., letter X). The variables used as indicators of performance for this test were reaction time, the number of commission errors and d' , which is a measure of attentiveness. The WCST is a test of executive function that mainly involves the dorsolateral prefrontal cortex (Monchi et al., 2001; Lie et al., 2006). The number of perseverative errors has usually been taken as a measure of performance on this test (Egan et al., 2001; Jooper et al., 2002; Malhotra et al., 2002; Rosa et al., 2004) since it is thought to best reflect prefrontal function. The Vocabulary subscale of the WAIS-III (Wechsler Intelligence Adult Scale—Third Edition, The Psychological Corporation, San Antonio, TX, USA), a test of general intelligence, was administered as an estimator of the cognitive level of each subject. Vocabulary level has long been recognized as an excellent guide to the general mental ability of intact, well-socialized persons (Lezak et al., 2004) and the Vocabulary subscale of the WAIS shows high correlations not only with measures of verbal intelligence but also with the global intellectual ability (Feingold, 1982). The two people responsible for the cognitive assessment (MAJ and XC) were trained neuropsychologists and were blind to subjects' genotypes.

Step-wise multiple regression analyses with COMT (number of Val alleles; Met/Met=0, Val/Met=1, Val/Val=2) and DAT (number of 9-repeat alleles; 10/10=0, 9/10=1, 9/9=2) genotypes as predictors were used to examine the effect of genotypes on cognitive data. Data were analysed with SPSS 11.0.1 for Windows.

fMRI task

While being scanned, subjects underwent a version of the *N*-back paradigm. The *N*-back is a working memory test in which subjects are presented a series of stimuli and they are required to respond every time that the current stimulus matches the stimulus displayed *n* positions before. Our version of the *N*-back consisted in eight alternate blocks of two conditions: 0-back and 2-back. Each condition began with an instruction message, which lasted 2 s, to inform the subjects on what condition of the task they were facing. Twenty-four consecutive trials followed the instruc-

tion message. Each trial consisted of a 1500 ms interstimulus interval followed by the presentation of a one digit number (ranging from 1 to 9) for 500 ms. After the last trial, there was a 2-s period of blank screen before the next block began. The task started with the control condition (0-back), in which subjects had to respond every time the number 0 appeared on the screen. During the 2-back condition subjects had to respond when the current number was the same as the one displayed two positions before. Responses were collected to control the subjects' performance, which was always equal to or higher than 18 correct responses out of a total of 24 targets (6 in each block). Each block lasted for 52 s, so the duration of the acquisition protocol was 7 min and 4 s and yielded 212 whole-brain volumes (including 4 initial dummy images that were not analyzed). Prior to the fMRI scanning subjects were instructed and underwent a trial version of the task to ensure they had understood the instructions.

Image acquisition and analysis

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) data were obtained with a Signa General Electric (Milwaukee, WI) 1.5 T scanner using a T2-weighted gradient echo single-shot echoplanar imaging (EPI) sequence: TR (repetition time)=2000 ms; TE (echo time)=35 ms; FOV (field of view)=24×24 cm, 64×64 pixel matrix; flip angle=90°; slice thickness, 5 mm; gap, 1.5 mm and 20 axial slices per scan.

Images were analysed with SPM2 (Statistical Parametric Mapping, The Wellcome Department of Imaging Neuroscience, Institute of Neurology, University College London, UK) running on MATLAB 6.5 (MathWorks, Natick, MA). Images were motion corrected, spatially normalized to the EPI template of the SPM2 and smoothed with a 10 mm Gaussian kernel. For each subject, the 2-back>0-back *t* contrast was obtained and subsequently entered in a second-level analysis. First, a one-sample *t*-test thresholded at uncorrected $p=0.001$ was carried out to use the activation pattern of the 2-back to restrict the study to those areas activated by the task. Since we expected differences to be localized in the frontal lobe, we thresholded analyses at $p=0.005$ and an extent threshold of 15 adjacent voxels. We used a multiple regression model with two regressors: COMT (number of Val alleles) and DAT (number of 9-repeat alleles) genotypes. SPM contrasts were used to assess the contribution of each genotype to activation in the *N*-back task, as well as to determine the effect of both genotypes together.

Results

Subjects did not differ in terms of performance on the *N*-back task, sex, age and Vocabulary (highest $F=1.3$, lowest $p=0.271$) (see Table 1). The raw scores from the Vocabulary subtest of the WAIS III in our sample ranged from 38 to 57, with a mean=47.9 and S.D.=4.24, indicating that there were no ceiling effects.

Step-wise multiple regression analyses revealed a relationship between the COMT genotype and performance on the WCST, but the DAT genotype did not enter the model. The number of Val alleles was related to a higher number of perseverative errors ($F=4.9$; $p=0.03$). The COMT genotype explained 6.3% of the variance in performance. When the reaction time of the CPT was entered as a dependent variable, only the DAT genotype entered the model ($F=12.3$; $p=0.001$), accounting for 14.4% of the variance. Subjects homozygous for the 9-repeat allele showed the slowest reaction times, while subjects homozygous for the 10-repeat allele showed the fastest reaction times. For the number of commission errors both the COMT and DAT genotypes entered the model ($F=5.1$; $p=0.009$), explaining 12.4% of the variance. The Val and 10-repeat alleles were related to a higher number of commission errors. Since for the commission errors both the COMT and the DAT genotypes entered the model, we sought for possible interaction effects. The analysis of variance showed an interaction effect between COMT and DAT genotypes on this measure, the source of this interaction being found when considering individuals carriers of the Val/Val and 10/10 genotypes, who were those showing the highest number of commission errors ($F=4.65$; $p=0.005$). There was no relationship between the COMT or DAT genotypes and the variable d' of the CPT.

The study of the activation pattern for the 2-back task showed activation in the areas forming the cortical network underlying working memory (Callicott et al., 1999; Gazzaley et al., 2004; Bertolino et al., 2006). These areas included the dorsolateral prefrontal, cingulate and parietal cortices, thalamus, caudate nucleus and putamen (see Table 2 and Fig. 1).

Multiple regression analyses with COMT and DAT genotypes as predictors were used to assess differences in brain activation. No effects were found for each genotype independently. However, an additive effect of both genotypes was found. Analyses showed a linear relationship between COMT and DAT genotypes and brain activation in the left middle frontal gyrus (Montreal Neurological Institute [MNI] coordinates -30, 46, 40; Brodmann area [BA] 9; cluster size=89 voxels; $t=3.50$; $p<0.001$, uncorrected), explaining

Table 1
Mean and standard deviation of demographic and cognitive scores of the sample

	Met/Met 10/10	Met/Met 9/10	Val/Met 10/10	Val/Met 9/10	Val/Met 9/9	Val/Val 10/10	Val/Val 9/10	Val/Val 9/9
Men/women	4/2	6/5	5/6	7/7	6/1	3/2	9/7	5/-
Age	19.2 (±1.47)	20.8 (±1.47)	19.0 (±1.09)	19.1 (±1.98)	20.0 (±1.73)	19.4 (±2.07)	19.8 (±1.91)	18.4 (±0.89)
<i>N</i> -back % CR	94.5 (±7.76)	97.3 (±3.37)	96.2 (±6.31)	92.9 (±8.24)	97.6 (±3.28)	96.7 (±5.43)	94.3 (±4.27)	96.7 (±3.49)
Vocabulary	45.8 (±3.87)	47.5 (±4.97)	47.6 (±2.84)	47.6 (±4.16)	47.4 (±5.19)	51.4 (±2.97)	48.8 (±4.34)	46.8 (±3.56)
WCST PE	6.5 (±2.88)	7.6 (±3.59)	7.2 (±3.46)	7.9 (±3.11)	6.4 (±1.81)	13.0 (±8.54)	9.6 (±6.03)	8.4 (±5.64)
CPT d'	0.917 (±0.232)	0.827 (±0.597)	0.773 (±0.297)	0.671 (±0.281)	1.014 (±0.195)	0.460 (±0.152)	0.669 (±0.311)	0.880 (±0.377)
CPT OE	0.2 (±0.41)	1.5 (±2.73)	0.6 (±0.92)	1.6 (±2.87)	1.1 (±1.22)	2.8 (±6.26)	1.1 (±1.09)	0.4 (±0.55)
CPT CE	8.7 (±4.23)	11.3 (±6.83)	11.4 (±5.54)	11.4 (±4.42)	7.1 (±1.77)	22.0 (±10.12)	11.4 (±3.39)	10.0 (±6.33)
CPT RT	320.5 (±36.58)	335.0 (±64.83)	317.5 (±26.67)	342.4 (±47.13)	376.5 (±47.43)	304.7 (±52.65)	342.2 (±49.20)	375.5 (±71.80)

CR=correct responses; PE=perseverative errors; OE=omission errors; CE=commission errors; RT=reaction time; CPT=Continuous Performance Test; WCST=Wisconsin Card Sorting Test.

Table 2

Brain areas activated by the 2-back condition compared to the 0-back condition

Region	BA	<i>T</i>	MNI coordinates
R inferior parietal lobule	40	23.3	42 -44 46
R/L superior parietal lobule	7	20.65/21.95	32 -64 50/-38 -52 50
R/L middle frontal gyrus	6	22.73/16.35	30 -2 56/-24 -2 60
R/L middle frontal gyrus	46/9	20.71/15.95	42 32 32/-46 24 36
R/L middle frontal gyrus	10	14.57/14.73	36 52 22/-36 50 14
R superior frontal gyrus	8	17.38	6 22 48
R/L inferior frontal gyrus	47	17.44/15.45	34 24 0/-32 22 0
R inferior frontal gyrus	44	12.99	52 10 30
L medial frontal gyrus	6/8	18.37	-2 12 54
R middle temporal gyrus	21	14.72	58 -38 -16
R/L inferior temporal gyrus	37	14.40/10.57	58 -44 -18/-54 -46 -18
R/L cerebellum		14.25/14.09	30 -64 -34/-10 -74 -28
R/L thalamus		11.25/11.02	6 -28 12/-12 -10 6
R/L putamen		10.84/8.63	14 -4 6/-14 2 6
R/L caudate		9.05/9.81	16 4 20/-18 2 22

All significant at $p < 0.05$ FWE corrected.

R=right; L=left.

14.3% of the response variance. Since a whole-brain approach is a rather conservative analysis considering the cognitive function assessed, we then applied a small volume correction to reduce the number of comparisons. A 15 mm radius sphere was placed in dorsolateral prefrontal region BA 9 on the basis of the whole-brain findings and previous studies reporting both the involvement of this area in working memory (Callicott et al., 1999, 2003) and its modulation by COMT and DAT genotypes (Egan et al., 2001; Bertolino et al., 2006). The application of the small volume correction with a 15 mm radius sphere centred at -30, 46, 40 provided significant results corrected for multiple comparisons (MNI coordinates -30, 46, 40; cluster size=64 voxels; $t=3.50$; $p=0.03$ family wise error [FWE] small volume correction) (see Fig. 2). Moreover, when the sphere was centred at -38, 38, 30 based on a previous study reporting differential activation in this region while performing a 2-back task (Callicott et al., 2003) activation was still significant (MNI coordinates -42, 38, 36; BA 9; cluster size=72 voxels; $t=3.41$; $p=0.037$ FWE small volume correction). When the interaction term (COMT \times DAT), which can be considered a measure of nonadditivity of the main effects, was introduced into the model results remained essentially unaltered, which suggests an additive effect of the two genotypes (MNI coordinates -30, 46, 40; BA 9; cluster size=61 voxels; $t=3.45$; $p=0.014$ FWE small volume correction). Fig. 3 illustrates the BOLD response for the genotypes.

Discussion

Our results provide evidence of an additive effect of COMT and DAT genotypes on brain activation. Neither the COMT alone nor the DAT alone provided a significant contribution to the regression model but the analysis of the two polymorphisms together revealed an additive effect. This analysis showed a significant relationship between the COMT and DAT genotypes and brain activation in BA 9 when performing the *N*-back task. Since all subjects had a similar

performance on the *N*-back our results might be interpreted as differences in physiological efficiency due to differences in synaptic dopamine availability. Previous findings are in agreement with a relation between the Val (Egan et al., 2001; Bertolino et al., 2006) and the 9-repeat alleles (Bertolino et al., 2006) and higher prefrontal activation during working memory. The lower synaptic dopamine availability in the prefrontal regions related to the Val allele would reduce the signal-to-noise ratio in the prefrontal neurons. This would explain the worse cognitive performance and lower efficiency of the physiological response (Egan et al., 2001). Regarding the DAT, it has been suggested to exert its effects by two ways (Bertolino et al., 2006). A direct way involves dopamine reuptake in the prefrontal areas. An indirect way would involve the modulation of the activity of the cortico-striato-thalamo-cortical pathways, since this activity is regulated by striatal dopamine (Wichmann and DeLong, 1996).

Previous studies have found an independent effect of COMT and DAT genotypes on brain activation during working memory (Egan et al., 2001; Bertolino et al., 2006). We did not observe an independent effect of COMT and DAT genotypes in our study, probably suggesting that it was underpowered to detect the effect of either gene alone and that only the larger, additive effect of the two genotypes combined was detectable. Although the sample consisted of a reasonable number of subjects, the large number of

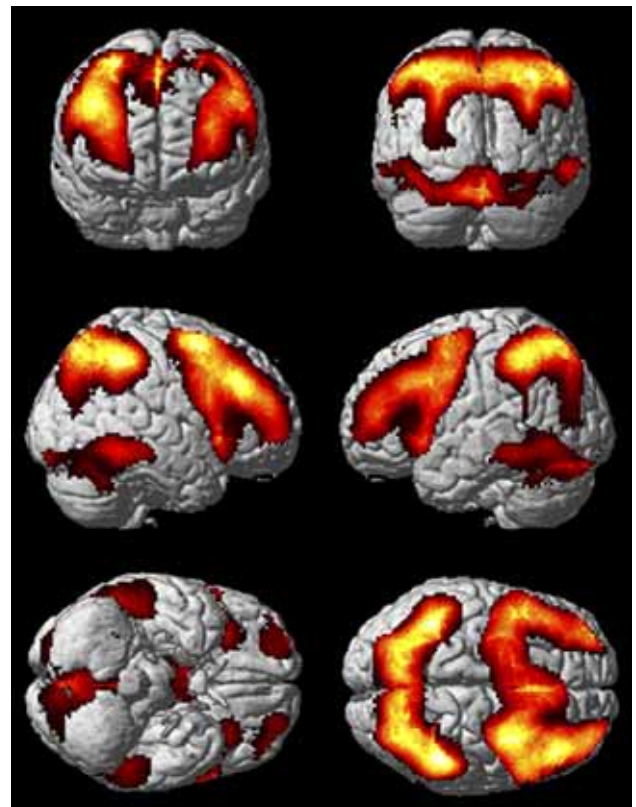


Fig. 1. Brain areas activated by the whole group during the 2-back condition compared to the 0-back condition ($p < 0.05$ FWE corrected). Areas of significant activation are depicted in hot colours and displayed on a tridimensional standard brain from the SPM2 software. Higher levels of activation can be observed in prefrontal and parietal cortex. First row: anterior and posterior view of the brain; second row: right and left lateral views; third row: inferior and superior views.

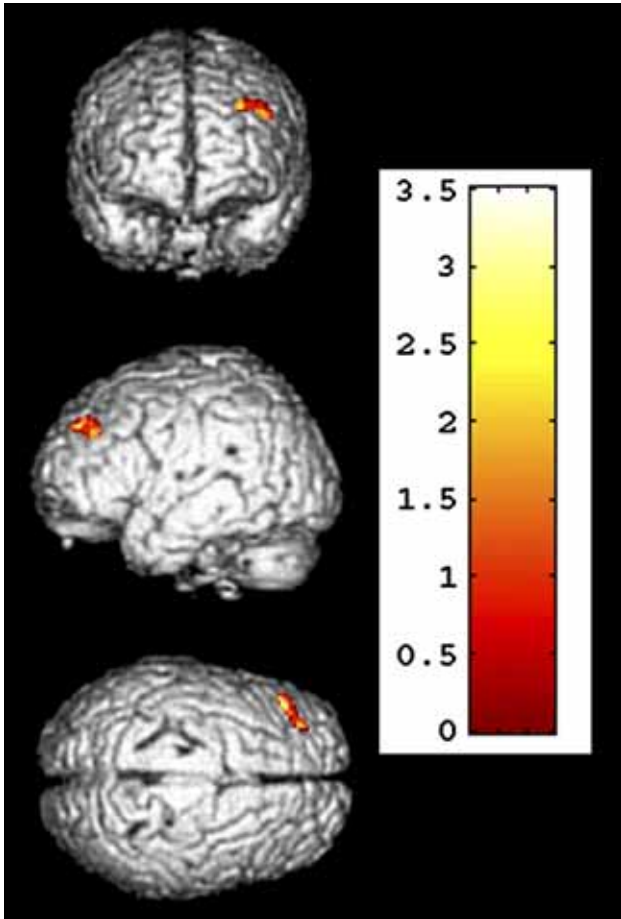


Fig. 2. Frontal, lateral and superior views of the additive effects of COMT and DAT genotypes on brain activation during the working memory task. The Val and the 9-repeat alleles were related to higher fMRI signal in BA 9 while performing an *N*-back task ($p < 0.012$ after FWE small volume correction). The colour-bar indicates *t* statistic values, yellow colour being more significant than red colour.

small genetic subgroups, which is especially evident by the lack of Met/Met and 9/9 subjects, might have hindered us from finding the independent effect of each genotype. Also, possible interactions between genes might be more difficult to demonstrate with such small genetic subgroups. Finally, it is possible that the present version of the *N*-back is not sensitive enough or has not sufficient working memory load to detect independent effects of each genetic variation. Discrepancies between our results and previous reported data by Bertolino et al. (2006) and Egan et al. (2001) could be explained by differences in clinical status and age of the sample, and in the fMRI task used. Egan et al. (2001) reported differences in schizophrenic patients and their siblings, whereas we worked with a sample of young healthy controls with no family history of psychotic illness. Regarding the study by Bertolino et al. (2006), although we also assessed a sample of healthy subjects, our sample was more homogeneous in terms of age. Another difference with respect to these two studies can be found in the task used during the functional imaging acquisition. The task used in the studies by Egan et al. (2001) and Bertolino et al. (2006) involves a higher working memory load than the one used in our study, given that every stimulus in their task is a target, which is not our case. Although the pattern of activation

we observed is in agreement with that reported in previous literature for working memory, the lower working memory load of the task we used may explain the differences in our findings. In this sense, it is possible that a 3-back version of the test would have avoided ceiling effects and facilitated the detection of interindividual differences.

Schott et al. (2006) recently reported a differential anatomical effect of COMT and DAT genotypes on brain activation during episodic memory formation, with DAT and COMT effects found in midbrain and prefrontal cortex, respectively. In our study we did not find anatomically and functionally distinct roles for COMT and DAT. This could have been expected to happen between dorsolateral prefrontal cortex and the striatum, given that both regions were activated by the task and show a differential expression of COMT and DAT. As mentioned before, it could be that our study was underpowered to detect these smaller effects and only the larger, additive effect was detected, which was more evident in prefrontal cortex.

Our cognitive results indicate that there is an effect of COMT and DAT polymorphisms on cognitive function in our sample. Only for the commission errors of the CPT we found an interaction effect between both genotypes. The source of this interaction was found when considering carriers of the genotypes associated to lower dopamine availability, namely Val/Val and 10/10. This might suggest that the presence of either a Met or 9-repeat allele confers some cognitive advantage. Present results reinforce the findings of a

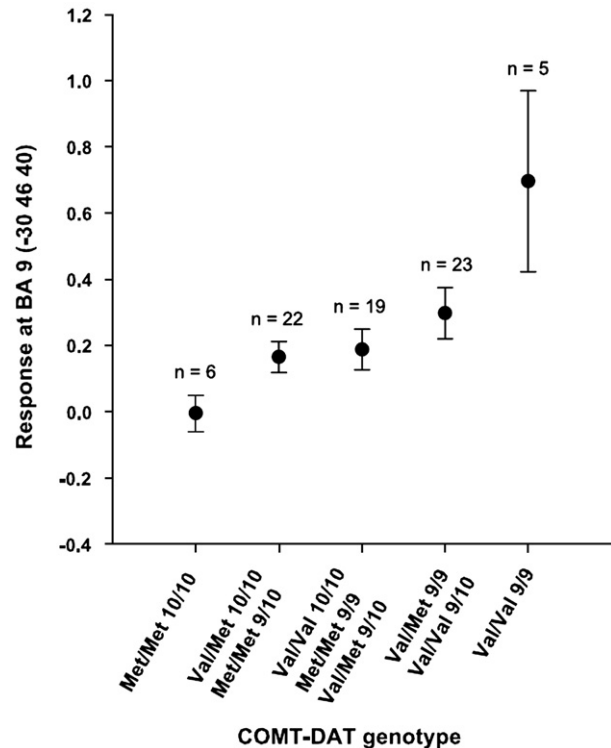


Fig. 3. Genotype-related blood oxygen level dependent response in BA 9. Data was obtained from an additional simple regression analysis introducing the number of hypothetical “beneficial” alleles (Val and 9-repeat, ranging from 0 to 4) as a regressor, which provided practically identical results to those obtained by the multiple regression analysis. Dots represent means and bars represent standard errors. The number of subjects in each group is shown on the top of the graph.

- Department, New York State Psychiatric Institute, New York. Non-patient Edition.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N., Ishiura, S., 2001. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics* 1, 152–156.
- Gazzaley, A., Rissman, J., D'Esposito, M., 2004. Functional connectivity during working memory maintenance. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 4, 580–599.
- Gill, M., Daly, G., Heron, S., Hawi, Z., Fitzgerald, M., 1997. Confirmation of association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter polymorphism. *Mol. Psychiatry* 2, 311–313.
- Heinz, A., Goldman, D., Jones, D.W., Palmour, R., Hommer, D., Gorey, J.G., Lee, K.S., Linnoila, M., Weinberger, D.R., 2000. Genotype influences *in vivo* dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 22, 133–139.
- Ho, B.C., Wassink, T.H., O'Leary, D.S., Sheffield, V.C., Andreasen, N.C., 2005. Catechol-*o*-methyltransferase Val158Met polymorphism in schizophrenia: working memory, frontal lobe MRI morphology and frontal cerebral blood flow. *Mol. Psychiatry* 22, 287–298.
- Joobar, R., Gauthier, J., Lal, S., Bloom, D., Lalonde, P., Rouleau, G., 2002. Catechol-*o*-methyltransferase Val-108/158-Met gene variants associated with performance on the Wisconsin Card Sorting Test. *Arch. Gen. Psychiatry* 59, 662–663.
- Kang, A.M., Palmatier, M.A., Kidd, K.K., 1999. Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3). *Biol. Psychiatry* 46, 151–160.
- Kieling, C., Roman, T., Doyle, A.E., Hutz, M.H., Rohde, L.A., 2006. Association between DRD4 gene and performance of children with ADHD in a test of sustained attention. *Biol. Psychiatry* 60, 1163–1165.
- Krause, K.H., Dresel, S.H., Krause, J., La Fougere, C., Ackenheil, M., 2003. The dopamine transporter and neuroimaging in attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27, 605–613.
- Lachman, H.M., Papolos, D.F., Saito, T., Yu, Y.M., Szumlanski, C.L., Weinshilboum, R.M., 1996. Human catechol-*o*-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 6, 243–250.
- Lezak, M.D., Howieson, D.B., Loring, D.W., 2004. *Neuropsychological Assessment*, 4th ed. Oxford Univ. Press, New York.
- Lie, C.H., Specht, K., Marshall, J.C., Fink, G.R., 2006. Using fMRI to decompose the neural processes underlying the Wisconsin Card Sorting Test. *NeuroImage* 30, 1038–1049.
- Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melén, K., Julkunen, I., Takinen, J., 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, 4202–4210.
- Madras, B.K., Miller, G.M., Fischman, A.J., 2002. The dopamine transporter: relevance to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Behav. Brain Res.* 130, 57–63.
- Madras, B.K., Miller, G.M., Fischman, A.J., 2005. The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol. Psychiatry* 57, 1397–1409.
- Malhotra, A.K., Kestler, L.J., Mazzanti, C., Bates, J.A., Goldberg, T., Goldman, D., 2002. A functional polymorphism in the COMT gene and performance on a test of prefrontal cognition. *Am. J. Psychiatry* 159, 652–654.
- Martínez, D., Gelernter, J., Abi-Dargham, A., Van Dyck, C.H., Kegeles, L., Innis, R.B., Laruelle, M., 2001. The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology* 24, 553–560.
- Mattay, V.S., Tessitore, A., Callicott, J.H., Bertolino, A., Goldberg, T.E., Chase, T.N., Hyde, T.M., Weinberger, D.R., 2002. Dopaminergic modulation of cortical function in patients with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 51, 156–164.
- 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. *Am. J. Med. Genet.* 114, 975–979.
- Monchi, O., Petrides, M., Petre, V., Worsley, K., Dagher, A., 2001. Wisconsin Card Sorting revisited: distinct neural circuits participating in different stages of the task identified by event-related functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.* 21, 7733–7741.
- Numata, S., Ueno, S., Iga, J., Yamauchi, K., Hongwei, S., Kinouchi, S., Shibuya-Tayoshi, S., Tayoshi, S., Aki, H., Sumitani, S., Itakura, M., Ohmori, T., 2007. Interaction between catechol-*o*-methyltransferase (COMT) Val108/158Met and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphisms in age at onset and clinical symptoms in schizophrenia. *J. Neural Transm.* 114, 255–259.
- Paolo, A.M., Axelrod, B.N., Troster, A.I., Blackwell, K.T., Koller, W.C., 1996. Utility of a Wisconsin Card Sorting Test short form in persons with Alzheimer's and Parkinson's disease. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 18, 892–897.
- Reuter, M., Peters, K., Schroeter, K., Koebke, W., Lenardon, D., Bloch, B., Hennig, J., 2005. The influence of the dopaminergic system on cognitive functioning: a molecular genetic approach. *Behav. Brain Res.* 164, 93–99.
- Reuter, M., Schmitz, A., Corr, P., Hennig, J., 2006. Molecular genetics support Gray's personality theory: the interaction of COMT and DRD2 polymorphisms predicts the behavioural approach system. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 9, 155–166.
- Rosa, A., Peralta, V., Cuesta, M.J., Zarzuela, A., Serrano, F., Martínez-Larrea, A., Fañanás, L., 2004. New evidence of association between COMT gene and prefrontal neurocognitive function in healthy individuals from sibling pairs discordant for psychosis. *Am. J. Psychiatry* 161, 1110–1112.
- Sano, A., Kondoh, K., Kakimoto, Y., Kondo, I., 1993. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum. Genet.* 91, 405–406.
- Schott, B.H., Seidenbecher, C.I., Fenker, D.B., Lauer, C.J., Bunzeck, N., Bernstein, H.G., Tischmeyer, W., Gundelfinger, E.D., Heinze, H.J., Düzel, E., 2006. The dopamine midbrain participates in human episodic memory formation: evidence from genetic imaging. *J. Neurosci.* 26, 1407–1417.
- Vandenberg, D.J., Persico, A.M., Hawkins, A.L., Griffin, C.A., Li, X., Jabs, E.W., Uhl, G.R., 1992. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 14, 1104–1106.
- Vandenberg, D.J., Thompson, M.D., Cook, E.H., Bendahhou, E., Nguyen, T., Krasowski, M.D., Zarrabian, D., Comings, D., Sellers, E.M., Tyndale, R.F., George, S.R., O'Dowd, B.F., Uhl, G.R., 2000. Human dopamine transporter gene: coding region among normal, Tourette's disorder, alcohol dependence and attention-deficit hyperactivity disorder populations. *Mol. Psychiatry* 5, 283–292.
- Van Dyck, C.H., Malison, R.T., Jacobsen, L.K., Seibyl, J.P., Staley, J.K., Laruelle, M., Baldwin, R.M., Innis, R.B., Gelernter, J., 2005. Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of SLC6A3 gene. *J. Nucl. Med.* 46, 745–751.
- VanNess, S.H., Owens, M.J., Kilts, C.D., 2005. The variable number of tandem repeats element in DAT 1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet.* 6, 55.
- Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., Logan, J., Gerasimov, M., Maynard, L., Ding, Y.S., Gatley, S.J., Gifford, A., Franceschi, D., 2001. Therapeutic doses of oral methylphenidate significantly increase extracellular dopamine in the human brain. *J. Neurosci.* 21 (RC121), 1–5.
- Waldman, I.D., Rowe, D.C., Abramowitz, A., Kozel, S.T., Mohr, J.H., Sherman, S.L., Cleveland, H.H., Sanders, M.L., Gard, J.M.C., Stever, C., 1998. Association and linkage of dopamine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder in children: heterogeneity owing to diagnostic subtype and severity. *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1767–1776.
- Weinshilboum, R.M., Otterness, D.M., Szumlanski, C.L., 1999. Methylation pharmacogenetics: catechol-*o*-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine *N*-methyltransferase. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39, 19–52.

- Wichmann, T., DeLong, M.R., 1996. Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr. Opin. Neurobiol.* 6, 751–758.
- Winstanley, C.A., Eagle, D.M., Robbins, T.W., 2006. Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: translation between clinical and preclinical studies. *Clin. Psychol. Rev.* 4, 379–395.
- Witt, K., Daniels, C., Daniel, V., Schmitt-Eliassen, J., Volkmann, J., Deuschl, G., 2006. Patients with Parkinson's disease learn to control complex systems—An indication for intact implicit cognitive skill learning. *Neuropsychologia* 44, 2445–2451.
- Xu, H., Kellendonk, C.B., Simpson, E.H., Keilp, J.G., Bruder, G.E., Polan, H.J., Kandel, E.R., Gilliam, T.C., 2007. DRD2 C957T polymorphism interacts with the COMT Val158Met polymorphism in human working memory ability. *Schizophr. Res.* 90, 104–107.

