



**Η επίδοση στις γνωστικές λειτουργίες σε σχέση με τον
Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμό της COMT σε υγιείς άρρενες**

Κουτμερίδου Κυριακή

Επιβλέπων: Π. Μπίτσιος, Επίκ. Καθ. Ψυχιατρικής
Μέλη: Α. Καστελλάκης, Επίκ. Καθ. Ψυχοφυσιολογίας
Γ. Παναγής, Λέκτορας Ψυχολογίας, PhD

Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ιατρική Σχολή, 2006

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

• Εισαγωγή.....	3
• Μεθοδολογία.....	13
• Αποτελέσματα.....	21
• Συζήτηση.....	28
• Βιβλιογραφία.....	32

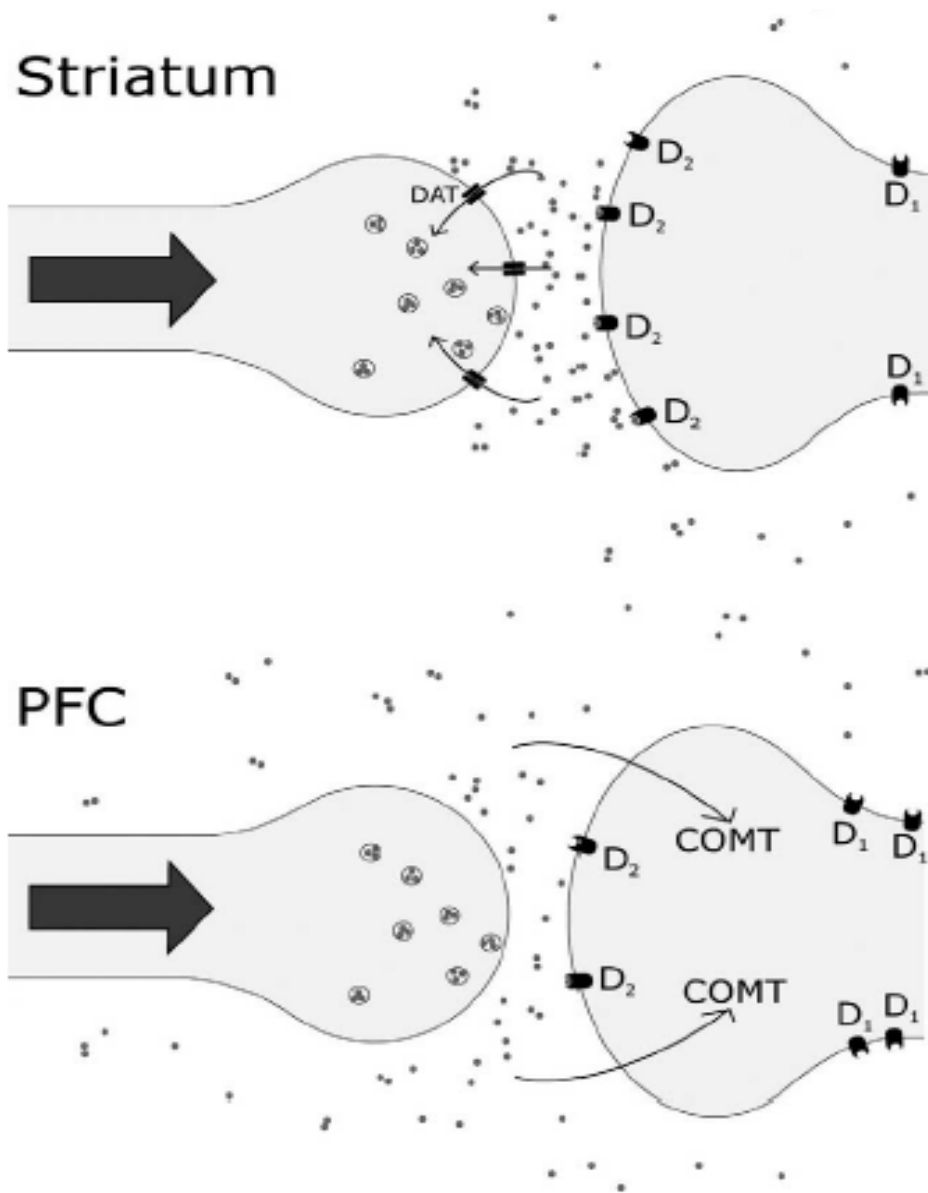
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νευροδιαβιβαστική δραστηριότητα των κατεχολαμινών στον προμετωπιαίο φλοιό (PFC) ασκεί μια ισχυρή τροποποιητική επιρροή πάνω σε ένα εύρος γνωστικών λειτουργιών στα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων (Berridge και Waterhouse, 2003 Minzenberg et al., 2006). Σύμφωνα με διάφορες ανατομικές έρευνες στον ανθρώπινο εγκέφαλο υπάρχουν 4 διαφορετικά και διακριτά μονοπάτια για τη νευροδιαβίβαση ντοπαμίνης (DA) (Kandel, 2000). Το μελαιο-ραβδωτό μονοπάτι ξεκινά από τα ντοπαμινεργικά κύτταρα της μέλαινας ουσίας και προβάλλει κυρίως στο ραβδωτό και την ωχρά σφαίρα. Αυτό το μονοπάτι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της κίνησης και ο εκφυλισμός του συσχετίζεται με τη νόσο του Parkinson. Η δεύτερη οδός, η μεσομεταιχμιακή, ξεκινά από τα ντοπαμινεργικά κύτταρα της κοιλιακής καλυπτρικής περιοχής και προβάλλει σε διάφορες περιοχές του μεταιχμιακού συστήματος όπως, τον επικλινή πυρήνα, την αμυγδαλή, το διάφραγμα και τον ενδορινικό φλοιό. Αυτό το μονοπάτι διαδραματίζει βασικό ρόλο στα συναισθήματα και την κινητοποίηση (motivation). Ειδικότερα, οι προβολές στον επικλινή πυρήνα συμμετέχουν στα κυκλώματα ανταμοιβής και στον εθισμό. Επιπλέον, η υπερ-ενεργοποίηση του μεσομεταιχμιακού μονοπατιού συσχετίζεται με τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας. Το τρίτο και πιο μικρό μονοπάτι είναι το μεσοηνιακό το οποίο συμμετέχει στα κυκλώματα παλίνδρομης ανατροφοδότησης που ελέγχουν τη νευροδιαβίβαση ντοπαμίνης στο ραβδωτό και το φλοιό. Τέλος, η φυματοχοανική οδός ελέγχει την απελευθέρωση προλακτίνης από την υπόφυση με τους αγωνιστές ντοπαμίνης να μειώνουν τις συγκεντρώσεις της ενώ οι ανταγωνιστές να τις αυξάνουν.

Η νευροδιαβίβαση ντοπαμίνης (DA) έχει αποδειχθεί κρίσιμη για τις γνωστικές λειτουργίες που εξυπηρετούνται από τον PFC. Η ντοπαμίνη επιδρά στη λειτουργία του PFC σύμφωνα με μια καμπύλη δόσης-απόκρισης ανεστραμμένου U σχήματος, έτσι ώστε η βέλτιστη απόκριση περιορίζεται σε ένα στενό φάσμα της DA δραστηριότητας, με την πολύ λίγη ή την πάρα πολλή DA να έχει σχετικά επιβλαβή επίδραση (Williams and Goldman-Rakic, 1995). Τα επίπεδα DA στον PFC καθορίζονται από τη βιοσύνθεση και την απελευθέρωση DA αλλά και από το ποσοστό διάχυσης, επαναπρόσληψης, και μεταβολισμού της. Η DA βιοσύνθεση και απελευθέρωση μπορούν να ρυθμιστούν περαιτέρω από την αλληλεπίδραση μεταξύ της ντοπαμίνης και των προσυναπτικών D2 αυτό-υποδοχέων που βρίσκονται στο σώμα, στους δενδρίτες ή στις απολήξεις του νευρώνα. Για την απενεργοποίηση της ντοπαμίνης υπάρχουν περισσότερες από μια οδοί. Μετά την απελευθέρωσή της, η DA μπορεί να επαναπροσληφθεί από τους μεταφορείς ντοπαμίνης (DATs) που βρίσκονται στις προσυναπτικές απολήξεις. Ύστερα, είτε αποθηκεύεται στα κυστίδια για μετέπειτα χρήση ή μεταβολίζεται από την μονοαμινοξειδάση (MAO), ένα ένζυμο που βρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Ένας άλλος τρόπος DA απενεργοποίησης είναι ο άμεσος μεταβολισμός της από ένα άλλο ένζυμο, την κατεχολο-μεθυλο-τρανσφεράση (COMT) που βρίσκεται στις συνάψεις. Τέλος, η DA μπορεί να απενεργοποιηθεί μέσω της διάχυσής της στον εξωκυττάριο χώρο.

Το γονίδιο της COMT βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22, ζώνη q11.2 και αποτελείται από έξι εξόνια, από τα οποία τα δύο πρώτα είναι μη-κωδικοποιητικά, ενώ τα υπόλοιπα κωδικοποιούν δύο γνωστά μεταγραφήματα των 1.3kb και 1.5kb στους ανθρώπους, από δύο υποκινητές (promoters) (Grossman et al., 1992). Υπάρχει μια τριτροπική (trimodal) κατανομή της δραστηριότητας της COMT στον ανθρώπινο πληθυσμό λόγω της παρουσίας ενός λειτουργικού πολυμορφισμού στην ακολουθία κωδικοποίησης (Lachman et al., 1996). Αυτός ο πολυμορφισμός αποτελείται από μια αντικατάσταση του A με G, με συνέπεια την αντικατάσταση βαλίνης με μεθειονίνη στη θέση 158 της COMT (Lotta et al., 1995; Bearden et al., 2004). Αυτή η αντικατάσταση ενός αμινοξέος επηρεάζει δραματικά την σταθερότητα του ενζύμου στη θερμοκρασία, έτσι ώστε στους 37°C (θερμοκρασία σώματος) η Met158 μορφή της COMT έχει το ένα τέταρτο της ενζυμικής δραστηριότητας της Val158 μορφής (Chen et al., 2004a). Τα άτομα με τον val/val γονότυπο έχουν επομένως γρηγορότερη απενεργοποίηση της απελευθερωμένης ντοπαμίνης σε σχέση με τα άτομα με τον met/met γονότυπο, και οι ετερογυζυγώτες θα βρίσκονται ενδιάμεσα, γεγονός που εξηγεί την παρατηρηθείσα τριτροπική κατανομή της δραστηριότητας της COMT.

Η καταβολική ροή της συναπτικής DA μέσω του μονοπατιού της COMT υπερβαίνει το 60% στον PFC, έναντι μόνο του 15% στο ραβδωτό. Η εμφανώς εκλεκτική επίδραση της COMT στην ντοπαμινεργική σηματοδότηση στον PFC δεν οφείλεται στην κατανομή της COMT, η οποία εκφράζεται ευρέως στον εγκέφαλο, αλλά στη σχετικά χαμηλή παρουσία συναπτικών DATs στον PFC (Lewis et al., 2001; Sesack et al., 1998). Κατά συνέπεια, η COMT έχει μια μοναδική και άμεση επίδραση πάνω στη λειτουργία της συναπτικής ντοπαμίνης στον PFC επηρεάζοντας τη συναπτική δραστηριότητα μέσω τροποποίησης των εξω-συναπτικών κλίσεων συγκέντρωσης ντοπαμίνης, ενώ οι μεταφορείς παίζουν ένα μικρό ρόλο στην απομάκρυνση της συναπτικής ντοπαμίνης στην περιοχή αυτή (Σχ.1) (Lachman et al., 1996; Blasi et al., 2005).



Σχ.1.Ντοπαμινεργική διαβίβαση στον προμετωπιαίο φλοιό (PFC) και το ραβδωτό. Στο ραβδωτό, ο μεταφορέας ντοπαμίνης (DAT) είναι υπεύθυνος για την απομάκρυνση της ντοπαμίνης από τη συναπτική σχισμή, με την κατεχολο-μεθυλο-τρανσφεράση (COMT) να διαδραματίζει δευτερεύοντα ρόλο. Στον PFC, η έλλειψη του μεταφορέα ντοπαμίνης στη σύναψη σημαίνει ότι η COMT διαδραματίζει προεξέχοντα ρόλο στην απενεργοποίηση της ντοπαμίνης. Έτσι, η μικρότερη δραστηριότητα της COMT στους Met158 φορείς, σε σύγκριση με τους Val158 φορείς, οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα ντοπαμίνης στον PFC (Tunbridge et al., 2006).

Επιπλέον, η δραστηριότητα της COMT επηρεάζει και τη δραστηριότητα των ντοπαμινεργικών νευρώνων στον μεσεγκέφαλο, αλλά αυτό φαίνεται να είναι μια έμμεση επίδραση που διαμεσολαβείται από ανατροφοδότηση που προέρχεται από τον PFC. Η λειτουργία της ντοπαμίνης στον PFC έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει την υποφλοιϊκή δραστηριότητα της DA, ένα κύκλωμα που θεωρείται δυσλειτουργικό στη σχιζοφρένια (Grace 2000). Υποτίθεται ότι η δραστηριότητα του PFC ασκεί τονική αναστολή στις ραβδωτές ντοπαμινεργικές προβολές μέσω ανασταλτικών GABA νευρώνων στον μεσεγκέφαλο ή το ραβδωτό· κατά συνέπεια, η δραστηριότητα ντοπαμίνης στο PFC και το ραβδωτό μπορεί να σχετίζεται αντίστροφα (Carr και Sesack 2001). Όπως είναι αναμενόμενο, βάσει της σημασίας της στον PFC, η COMT φαίνεται να έχει επιπτώσεις στη λειτουργία αυτού του κυκλώματος. Η υψηλότερη COMT δραστηριότητα, όπως παρέχεται από το Val158 αλληλόμορφο γονίδιο, συνδέεται με αυξημένη σύνθεση ντοπαμίνης στο μεσεγκέφαλο, γεγονός που προτείνει ότι ο Val158Met πολυμορφισμός μπορεί έμμεσα να έχει επιπτώσεις στη ντοπαμινεργική λειτουργία και άλλων περιοχών του εγκεφάλου, πιθανώς ως downstream εκδηλώσεις αλλαγών στη φλοιϊκή επεξεργασία (Tunbridge et al., 2006).

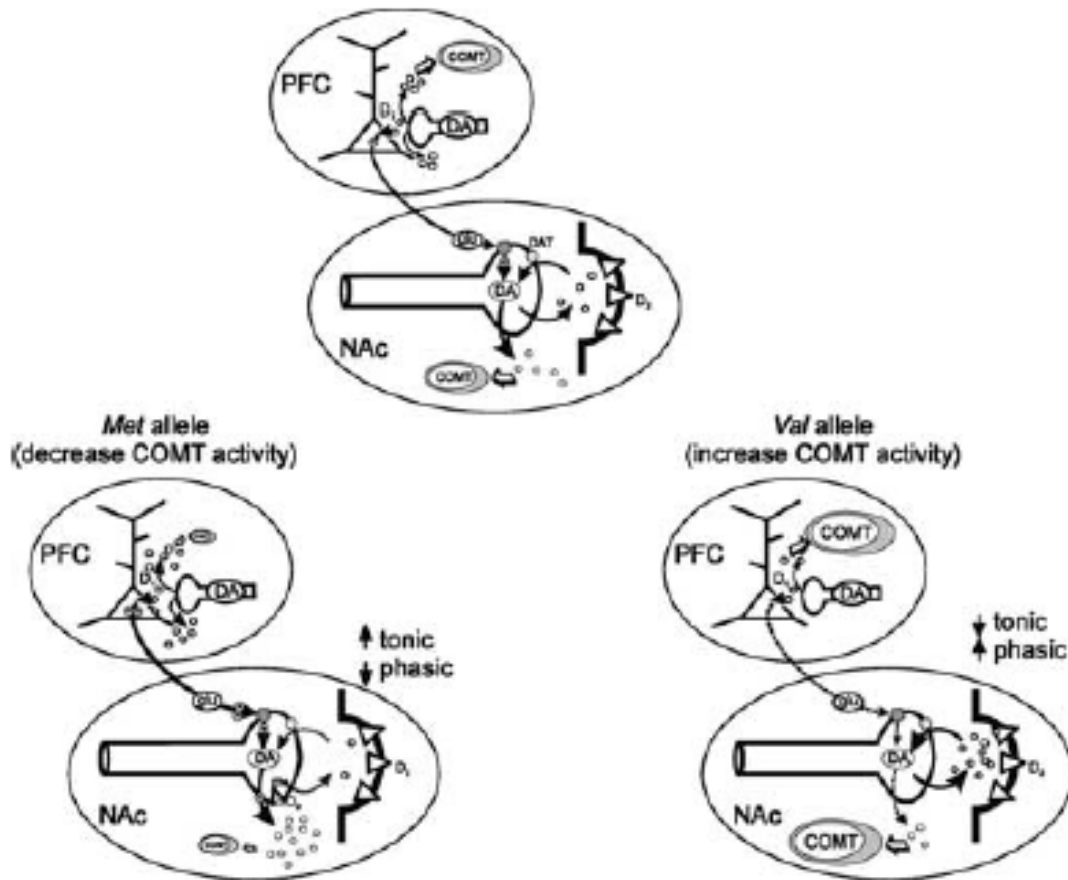
Οι λειτουργικές επιπτώσεις του πολυμορφισμού της COMT μπορούν να γίνουν καλύτερα κατανοητές μέσα από μια θεωρία που διαφοροποιεί τους ρόλους της τονικής και φασικής DA (Grace 1991). Εν συντομία, αυτή η θεωρία ισχυρίζεται ότι η δυναμική της ρύθμισης της DA στις μεταιχμιακές-ραβδωτές περιοχές προκύπτει μέσω δύο διαδικασιών: (1) μιας μεγάλου εύρους παροδικής, φασικής απελευθέρωσης DA που διαμεσολαβείται από «ξεσπάσματα» πυροδότησης των DA νευρώνων, και (2) ενός σταθερού χαμηλού επιπέδου “background” τονικής DA που αντανakλά την βασική πυροδότηση των DA νευρώνων η οποία ρυθμίζεται από τις φλοιο-ραβδωτές γλουταμινεργικές προβολές. Η πυροδότηση των DA νευρώνων ως απάντηση σε συμπεριφορικά ερεθίσματα ενεργοποιεί το φασικό στοιχείο της DA απελευθέρωσης προς μετασυναπτικούς στόχους. Η θεωρία επίσης προτείνει ότι τα τονικά επίπεδα ντοπαμίνης ρυθμίζουν με την σειρά τους το εύρος της φασικής DA απόκρισης μέσω της ενεργοποίησης των ιδιαίτερα ευαίσθητων DA αυτοϋποδοχέων στις απολήξεις.

Σύμφωνα με το τονικό/φασικό μοντέλο, η υψηλού-εύρους φασική ντοπαμίνη που απελευθερώνεται εξαιτίας συμπεριφορικά προκαλούμενων δυναμικών ενεργείας στα υποφλοιϊκά συστήματα ρυθμίζεται από τη γρήγορη επαναπρόσληψη από τους DATs (Floresco et al., 2003; Moore et al., 1999; Grace 1991, 1993). Αυτό το φασικό στοιχείο δεν επηρεάζεται άμεσα από την COMT, δεδομένου ότι η COMT δεν είναι παρούσα στις DA απολήξεις, και ο ρόλος της θεωρείται ότι είναι κυρίως ο καταβολισμός της εξω-νευρωνικής ντοπαμίνης στα γλοιϊκά κύτταρα και τους μετασυναπτικούς νευρώνες (Gogos et al., 1998). Αυτές οι παρατηρήσεις προτείνουν ότι η COMT διαδραματίζει μεγαλύτερο ρόλο στη ρύθμιση της DA μόλις αυτή δραπετεύσει από τη συναπτική σχισμή (Floresco et al., 2004). Στα υποφλοιϊκά συστήματα, αυτός ο διαχωρισμός είναι σημαντικός, καθώς χαμηλά επίπεδα DA που δεν υπόκεινται στη διαδικασία γρήγορης επαναπρόσληψης θα δραπετεύσουν από τη συναπτική σχισμή και θα συμβάλουν στην τονική, εξω-κυτταρική δεξαμενή ντοπαμίνης (Floresco et al., 2003). Αυξήσεις στην τονική DA χρησιμεύουν στο να καταστέλλουν τη δραστηριότητα της φασικής DA μέσω δράσης στους αυτοϋποδοχείς στις DA απολήξεις. Κατά συνέπεια, η υψηλότερη

δραστηριότητα της COMT στον υπόφλοιο που συνδέεται με το Val αλληλόμορφο γονίδιο θα προκαλούσε μια εκλεκτική μείωση στην τονική DA υποφλοιϊκά, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο σε ενεργοποίηση της φασικής DA διαβίβασης, ενώ η χαμηλότερης δραστηριότητας μορφή της COMT που συνδέεται με το Met αλληλόμορφο γονίδιο θα αύξανε την τονική DA και θα μείωνε τη φασική DA υποφλοιϊκά.

Αντίθετα, η ντοπαμινεργική διαβίβαση στον PFC φαίνεται να είναι κάτω από διαφορετική ρυθμιστική δυναμική. Υπάρχουν σημαντικά λιγότεροι DATs στις DA απολήξεις στον PFC, γεγονός που πιθανώς αποτελεί τη βάση της σχετικά μεγαλύτερης αναλογίας ντοπαμίνης στον εξωκυττάριο χώρο του PFC σε σύγκριση με αυτόν του ραβδωτού (Moghaddam et al., 1993). Κατά συνέπεια, η DA στον PFC είναι σε θέση να προκαλεί αντιδράσεις σε μεγαλύτερες αποστάσεις διάχυσης, ενεργώντας στους D1 υποδοχείς που βρίσκονται στις εξω-συναπτικές περιοχές (Smiley et al., 1994). Επομένως, οι δράσεις της COMT θα αναμένονταν να ασκήσουν ουσιαστικότερη επίδραση στη DA διαβίβαση μέσα στον PFC. Σχετικά χαμηλή COMT δραστηριότητα, ως συνέπεια του Met αλληλόμορφου γονιδίου, οδηγεί σε αυξημένη ντοπαμίνη στον PFC, επιτρέποντας της να διαχυθεί πέρα από τη συναπτική σχισμή και να ενεργοποιήσει τους εξωσυναπτικούς D1 υποδοχείς. Αντιθέτως, η υψηλή δραστηριότητα της COMT που κωδικοποιείται από το Val αλληλόμορφο γονίδιο περιορίζει τη διάχυση από τη σύναψη, γεγονός που ευνοεί την ενεργοποίηση των ενδοσυναπτικών D2 υποδοχέων (Σχ.1). Προτείνεται ότι η διέγερση των D1 υποδοχέων επαυξάνει την σχετιζόμενη με την είσοδο διεγερσιμότητα των πυραμιδικών νευρώνων και αυξάνει την ανασταλτική ανατροφοδότηση σε νευρώνες που δεν δέχονται είσοδο, αυξάνοντας έτσι την τοπική φλοιϊκή αναλογία σήματος προς θορύβου και σταθεροποιώντας την νευρωνική αναπαράσταση (neuronal representation). Αντίθετα, η D2 ενεργοποίηση μειώνει παροδικά την δραστηριότητα των τοπικών ανασταλτικών διάμεσων νευρώνων, με συνέπεια μια σχετικά μη ειδική αυξημένη διεγερσιμότητα των πυραμιδικών νευρώνων, που μειώνει την τοπική αναστολή και τη φλοιϊκή αναλογία σήματος προς θορύβου, παρεμποδίζοντας έτσι την ενημέρωση των νευρωνικών αναπαραστάσεων (Winterer και Weinberger 2004; Reuters et al., 2005).

Περίληπτικά, τα Met και Val αλληλόμορφα γονίδια του Val 158Met πολυμορφισμού της COMT λειτουργούν, ενισχύοντας τη σταθερότητα (D1 υποδοχείς) και την πλαστικότητα (D2 υποδοχείς) αντίστοιχα, της ενεργοποίησης των νευρωνικών δικτύων που διαμεσολαβούν την συντήρηση και την ενημέρωση της μνήμης εργασίας και των ανώτερων λειτουργιών της (Bilder et al., 2004; Bruder et al., 2005). Πιο συγκεκριμένα, (1) το Val αλληλόμορφο γονίδιο (υψηλή-δραστηριότητα COMT) μειώνει τις συγκεντρώσεις DA φλοιϊκά, ενώ υποφλοιϊκά αυξάνει την φασική και μειώνει την τονική DA διαβίβαση. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της D2 διαβίβασης στον PFC· κατά συνέπεια διευκολύνεται ή μετάβαση σε εναλλακτικά νευρωνικά δίκτυα και αυτό οδηγεί σε ευέλικτη συμπεριφορά. (2) Το Met αλληλόμορφο γονίδιο (χαμηλή-δραστηριότητα COMT) αυξάνει τις συγκεντρώσεις DA φλοιϊκά, ενώ υποφλοιϊκά μειώνει τη φασική και αυξάνει την τονική DA διαβίβαση. Αυτό συνδέεται με αυξημένη D1 διαβίβαση στον PFC που αυξάνει τη σταθερότητα των δικτύων που διαμεσολαβούν τις αναπαραστάσεις της διατηρημένης μνήμης εργασίας (Σχ.2).

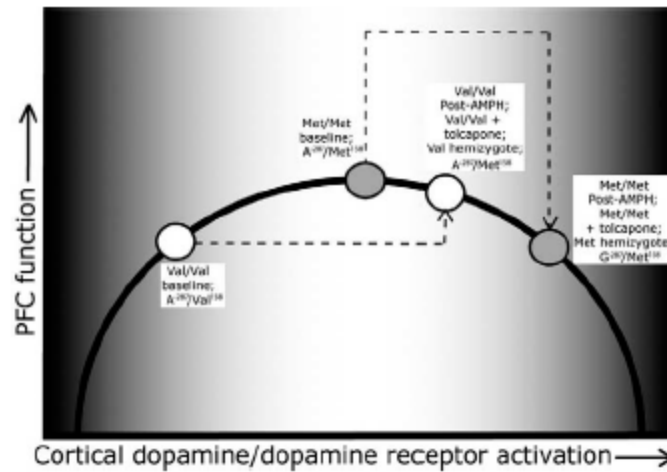


Σχ.2. Η δραστηριότητα της COMT έχει διαφορετικές επιπτώσεις στη DA διαβίβαση στον PFC και τον επικλινή πυρήνα. (Επάνω κέντρο) η DA που απελευθερώνεται από τις DA απολήξεις στον PFC υποκινεί τους μετασυναπτικούς D1 υποδοχείς στους πυραμιδικούς νευρώνες, όπου ασκεί ενισχυτική επίδραση στην νευρωνική πυροδότηση. Η δυνατότητα της DA να υποκινήσει πολλαπλάσιους PFC νευρώνες περιορίζεται από τη δυνατότητα της COMT να μεταβολίζει τη DA. Η αυξανόμενη δραστηριότητα στους πυραμιδικούς νευρώνες στον PFC θα αυξήσει την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος στον επικλινή πυρήνα, όπου μπορεί να υποκινήσει τους προσυναπτικούς υποδοχείς στις DA απολήξεις και να οδηγήσει στην τονική απελευθέρωση DA. Η τονική DA θα υποκινήσει τους αυτοϋποδοχείς στις DA απολήξεις και θα μειώσει τη φασική DA απελευθέρωση· το επίπεδο της τονικής DA στον εξωσυναπτικό χώρο ρυθμίζεται μέσω της δράσης της COMT. (Κάτω αριστερά) Η παρουσία του Met αλληλόμορφου γονιδίου της COMT μειώνει τη γενική δραστηριότητά της. Αυτό οδηγεί σε μειωμένο καταβολισμό της DA στον PFC, και σε μεγαλύτερη πυροδότηση των πυραμιδικών νευρώνων του PFC καθώς και μεγαλύτερη PFC-nAc (επικλινής πυρήνας) γλουταμινεργική διαβίβαση. Κατά συνέπεια, θα υπάρξει αυξημένη glutamate-υποκινημένη τονική DA απελευθέρωση στον επικλινή πυρήνα. Συνδυαζόμενο και με τον μειωμένο καταβολισμό της τονικής DA από την COMT στον επικλινή πυρήνα, το αποτέλεσμα είναι υψηλά επίπεδα τονικής DA και ισχυρή καταστολή της φασικής DA απόκρισης. (Κάτω δεξιά) Αντίθετα, η παρουσία του Val αλληλόμορφου γονιδίου της COMT θα αυξήσει τη δραστηριότητά της και θα παραγάγει έναν εμφανώς διαφορετικό συνδυασμό γεγονότων. Η υψηλή δραστηριότητα της COMT στον PFC θα αυξήσει το DA καταβολισμό σε αυτήν την περιοχή, περιορίζοντας έτσι τη D1-διαμεσολαβούμενη διέγερση των πυραμιδικών νευρώνων του PFC. Αυτό θα μειώσει την υποκινημένη από το γλουταμινικό τονική DA απελευθέρωση στον επικλινή πυρήνα, που θα επιδεινωθεί από τον τοπικά αυξημένο καταβολισμό της τονικής DA από την COMT. Η συνέπεια της μείωσης των τονικών επιπέδων DA θα είναι η απελευθέρωση της φασικής DA διαβίβασης από την τονική αναστολή της με συνέπεια την ανώμαλα υψηλή φασική DA απόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα (Bilder et al., 2004).

Εάν η τροποποίηση της προμετωπιαίας φλοιϊκής νευρωνικής δραστηριότητας από την ντοπαμίνη είναι ένας σημαντικός παράγοντας στη προμετωπιαία επεξεργασία των πληροφοριών, είναι λογικό να υποτεθεί ότι ένας γενετικός πολυμορφισμός που θα επηρέαζε την αποτελεσματικότητα της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό θα είχε επιπτώσεις στη προμετωπιαία φυσιολογία και στη συμπεριφορά που διαμεσολαβείται από τον προμετωπιαίο φλοιό (Braver et al., 1999). Το γονίδιο της COMT και, συγκεκριμένα ο Val158Met πολυμορφισμός, έχει συσχετιστεί επιτυχώς με τις προμετωπιαίες εκτελεστικές λειτουργίες που καλύπτουν γνωστικές διαδικασίες όπως η προσοχή και η μνήμη εργασίας (Rosa et al., 2004). Ένα συνεχώς αυξανόμενο και εκπληκτικά συνεπές σύνολο πρόσφατων ερευνών προτείνει ότι είναι πράγματι έτσι. Ο Egan και οι συνάδελφοι του (2001) κατέδειξαν ότι το Val158 αλληλόμορφο γονίδιο της COMT συνδέεται με σχετικά κακή επίδοση στην PFC-εξαρτώμενη δοκιμή ταξινόμησης καρτών του Wisconsin (Wisconsin Card Sorting Test-WCST), με τους Met158 ομοζυγώτες να έχουν καλύτερη επίδοση από τους Val158 ομοζυγώτες και τους ετεροζυγώτες να παρουσιάζουν ενδιάμεση επίδοση. Συνολικά, το γονίδιο της COMT προέβλεψε το 4% της απόκλισης στην απόδοση στο WCST. Το γονίδιο της COMT συνδέθηκε επίσης με τη προμετωπιαία δραστηριότητα, η οποία καθορίστηκε χρησιμοποιώντας fMRI (functional Magnetic Resonance Imaging) κατά τη διάρκεια της μνήμης εργασίας. Για ένα δεδομένο επίπεδο επίδοσης, οι Val158 ομοζυγώτες παρουσιάζουν μεγαλύτερη ενεργοποίηση του πλαγιο-ραχιαίου (dorsolateral) PFC και του ταινιωτού φλοιού από τους Met158 ομοζυγώτες, με τους ετεροζυγώτες να παρουσιάζουν πάλι ενδιάμεσα επίπεδα ενεργοποίησης (Egan et al., 2001). Έτσι, οι Val158 ομοζυγώτες χρησιμοποιούν τον PFC τους σχετικά λιγότερο «αποτελεσματικά» από τους Met158 φορείς, δηλαδή απαιτούν μεγαλύτερη προμετωπιαία ενεργοποίηση για ένα δεδομένο επίπεδο επίδοσης. Επομένως, το υψηλής δραστηριότητας Val158 γονίδιο της COMT συνδέεται με χειρότερη επίδοση αλλά και με «ανεπαρκή» προμετωπιαία λειτουργία, πιθανώς επειδή αυτά τα άτομα έχουν χαμηλότερα προμετωπιαία επίπεδα ντοπαμίνης. Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει ευρέως αναπαραγάγει και επεκτείνει αυτά τα ευρήματα. Ο Goldberg και οι συνάδελφοι του (2003) χρησιμοποίησαν την δοκιμασία μνήμης εργασίας γνωστή ως “n-Back” για να εξετάσουν την επίδραση του Val158Met πολυμορφισμού της COMT στην καθυστέρηση φόρτωσης πληροφοριών (load delay) και στην ενημέρωση (updating) των υπο-διαδικασιών της μνήμης εργασίας. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν παρόμοια αποτελέσματα του Val158Met COMT γονότυπου τόσο στην ακρίβεια των αποκρίσεων όσο και στον χρόνο αντίδρασης στην δοκιμασία 1- και 2-Back, με τους Val ομοζυγώτες να έχουν τη χειρότερη επίδοση και τους Met ομοζυγώτες να έχουν την καλύτερη. Δεδομένης της έλλειψης διαφορικών αποτελεσμάτων στα δύο επίπεδα του τεστ, οι συγγραφείς συμπέραναν ότι ο Val158Met COMT γονότυπος έχει επιπτώσεις συγκεκριμένα στην ενημέρωση των πληροφοριών και την τοποθέτηση σε σειρά (ordering) όταν υπάρχουν ανταγωνιστικά ερεθίσματα, γεγονός που αντανακλάται στις απαιτήσεις για συνεχή επιλογή και μη-επιλογή (deselection) των στόχων που είναι κοινοί στο 1- Back και 2- Back επίπεδο. Σε συμφωνία με αυτά τα ευρήματα η Malhotra και οι συνάδελφοι της (2002) χορήγησαν το WCST σε 73 υγιείς εθελοντές και ανέφεραν ότι οι Met ομοζυγώτες έκαναν σημαντικά λιγότερα λάθη “εμμονής” από τους Val φορείς. Επιπλέον, ο Bilder και οι συνάδελφοι του (2002) μελέτησαν τα αποτελέσματα του Val158Met πολυμορφισμού της COMT σε 58 χρόνιους σχιζοφρενείς ασθενείς, με ένα σύνολο 15 νευροψυχολογικών δοκιμών. Τα αποτελέσματα

αποκάλυψαν ότι το Met αλληλόμορφο γονίδιο συνδέεται με ανώτερη επίδοση στον τομέα της προσοχής και της ταχύτητας της επεξεργασίας, δημιουργώντας έτσι την πιθανότητα ο γονότυπος της COMT να συνδέεται με ένα κάπως μεγαλύτερο εύρος γνωστικών λειτουργιών πέρα από την απλή μνήμη εργασίας. Ο Diaz-Asper και οι συνάδελφοι του (2006) εξέτασαν την επίδραση του γονότυπου COMT με μια σειρά δοκιμασιών μνήμης εργασίας /εκτελεστικής λειτουργίας [N-Back, δοκιμή συνεχούς επίδοσης (Continuous Performance Test -CPT)] σε ένα μεγάλο δείγμα σχιζοφρενών probands (τα αρχικά άτομα που παρουσιάζουν μια ψυχική ή σωματική διαταραχή και τα οποία χρησιμεύουν ως βάση για μία γενετική μελέτη ή μελέτη κληρονομικότητας) (n=359), των μη-ψυχωσικών αδερφών τους (n=330) και σε μια ομάδα ελέγχου (n=330). Τα αποτελέσματα προτείνουν ότι η COMT Val158Met ασκεί επίδραση ακόμη και στις λειτουργίες ελέγχου της προσοχής ή ανίχνευσης στόχων με τους Met ομοζυγώτες να καταδεικνύουν πάλι την καλύτερη επίδοση και στις δύο δοκιμές.

Η θεωρούμενη ανεστραμμένου-U-σχήματος σχέση μεταξύ των επιπέδων ντοπαμίνης και της λειτουργίας του PFC καθιστά πιθανό ότι η σχέση μεταξύ της δραστηριότητας της COMT και της λειτουργίας του PFC είναι πιο σύνθετη από το να πούμε απλά ότι το Met158 είναι «καλό» και το Val158 «κακό». Η ακριβής επίδραση της δραστηριότητας της COMT στη λειτουργία του PFC θα εξαρτηθεί από την ακριβή θέση του εν λόγω ατόμου πάνω στην ανεστραμμένου-U-σχήματος καμπύλη σε οποιοδήποτε δεδομένο περιβαλλοντικό ή γενετικό πλαίσιο. Αυτό καταδείχθηκε από την Mattay και τους συναδέλφους της (2003), οι οποίοι παρουσίασαν διαφορετικά αποτελέσματα της αμφεταμίνης πάνω στις COMT Val158Met ομάδες γονότυπου κανονικών υποκειμένων. Μετά την χορήγηση αμφεταμίνης, οι Val158 ομοζυγώτες παρουσίασαν σημαντική βελτίωση τόσο στην PFC «αποτελεσματικότητα» στο fMRI όσο και στην επίδοση στο WCST, ενώ οι Met158 ομοζυγώτες, η απόδοση των οποίων είναι κανονικά ανώτερη από τους Val158 φορείς, παρουσίασαν μειωμένη PFC «αποτελεσματικότητα» και επίδοση. Αυτά τα δεδομένα εξηγούνται εύκολα στα πλαίσια της ανεστραμμένου-U-σχήματος σχέσης της ντοπαμίνης και της λειτουργίας του PFC· η ομοζυγωτικότητα «διασώζει» τα Val158 άτομα κινώντας τα προς την κορυφή της καμπύλης και εξασθενεί τα Met158 άτομα μετακινώντας τα προς την κατηφορική κλίση της καμπύλης (Σχ.3). Το κατά πόσον ο COMT γονότυπος ενός ατόμου είναι ευεργετικός ή καταστρεπτικός θα εξαρτηθεί όχι μόνο από παράγοντες σχετικά με την κατάσταση (state) του PFC αλλά και από τη φύση του εν λόγω στόχου (Bildler et al., 2004). Κάτω από συνθήκες όπου το να κρατάς τις γνωστικές πληροφορίες σε μια σταθερή κατάσταση είναι ευεργετικό (π.χ. εργαζόμενη μνήμη), οι Met158 φορείς πλεονεκτούν λόγω της αυξημένης υποφλοιϊκά τονικής διαβίβασης και της αυξημένης φλοιϊκά D1 διαβίβασης· ωστόσο, κατά τη διάρκεια ορισμένων έργων επεξεργασίας συναισθημάτων τα οποία μπορεί να εξαρτώνται από τη γρήγορη αποδέσμευση των φλοιϊκών καταστάσεων (cortical states), οι Met158 μεταφορείς μειονεκτούν λόγω ανεπαρκούς D2 διαβίβασης.



Σχ.3. Επιδράσεις της δραστηριότητας της κατεχολο-μεθυλο-τρανσφεράσης (COMT) στην ανεστραμμένου-U-σχήματος σχέση μεταξύ της ντοπαμίνης και της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού (PFC). Στα βασικά επίπεδα, η δραστηριότητα της COMT στους Val158 ομοζυγώτες συνδέεται με υπό του βέλτιστου επίπεδα ντοπαμίνης στον PFC, ενώ οι Met158 ομοζυγώτες έχουν σχεδόν βέλτιστα επίπεδα ντοπαμίνης στον PFC. Αρα, Οι Val158 ομοζυγώτες μπορούν να ωθηθούν στην κορυφή της ανεστραμμένης καμπύλης μετά από χορήγηση τολκαπόνης ή αμφεταμινών. Επομένως, ως συνέπεια της μειωμένης δραστηριότητας της COMT, η καθαρή επίδραση της αύξησης της ντοπαμινεργικής επίδρασης στους Val158 ομοζυγώτες είναι η βελτίωση της λειτουργίας του PFC. Αντίθετα, η ήδη αυξημένη ντοπαμινεργική διαβίβαση στους Met158 ομοζυγώτες λόγω μειωμένης δραστηριότητας της COMT οδηγεί σε υπέρ του βέλτιστου επίπεδα ντοπαμίνης στον PFC μετά από χορήγηση τολκαπόνης ή αμφεταμινών, που εξασθενούν τη λειτουργία του PFC (Tunbridge et al., 2006).

Επειδή ο COMT γονότυπος επιδρά στην αποτελεσματικότητα και την αποδοτικότητα της επεξεργασίας πληροφοριών στον προμετωπιαίο φλοιό, και επειδή η ανώμαλη προμετωπιαία φλοιϊκή λειτουργία συνδέεται με τη σχιζοφρένεια και το γενετικό κίνδυνο για σχιζοφρένεια, συνεπάγεται ότι ο COMT γονότυπος μπορεί να είναι ένας παράγοντας κινδύνου για την εκδήλωση σχιζοφρένειας (Weinberger et al., 2001; Funke et al., 2005; Glatt et al., 2003; Han et al., 2006). Η σχιζοφρένεια είναι μια σύνθετη γενετική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από χρόνια ψύχωση, γνωστική εξασθένηση, και λειτουργική ανικανότητα. Το ενδιαφέρον για το μετωπιαίο λοβό ως κλειδί για την προέλευση της σχιζοφρένειας χρονολογείται από νωρίς στο 20ό αιώνα. Κατά τη διάρκεια των δύο προηγούμενων δεκαετιών, μελέτες ασθενών με σχιζοφρένεια έχουν παράσχει εκτενή στοιχεία για τη διαταραγμένη λειτουργία των προμετωπιαίων νευρωνικών κυκλωμάτων, τόσο των τοπικών όσο και των ευρύτερα κατανεμημένων. Το φυσιολογικό (physiologic) και μοριακό μυστήριο του προμετωπιαίου ελλείμματος στους ασθενείς με σχιζοφρένεια αρχίζει να λύνεται (Fan et al., 2004). Πολλές μελέτες ασθενών έχουν αναφέρει μειωμένη προμετωπιαία φυσιολογική (physiological) δραστηριότητα γεγονός που απεικονίζεται στην μειωμένη περιοχική εγκεφαλική αιματική ροή στον μετωπιαίο λοβό (regional cerebral blood flow-rCBF «hypofrontality») (Callicot και Weinberger, 1999; Pantelis et al., 1997). Τα προμετωπιαία γνωστικά ελλείμματα, περιλαμβάνοντας ειδικά τη μνήμη εργασίας και τις ανώτερες εκτελεστικές λειτουργίες, έχουν συσχετιστεί στους ασθενείς με τα αποκαλούμενα αρνητικά συμπτώματα (Bergman et al., 1997), και έχει προταθεί ότι τα αρνητικά συμπτώματα απεικονίζουν επίσης την εξασθένηση της προμετωπιαίας νευρωνικής λειτουργίας (Weinberger, 1987; Goldberg και Weinberger, 1988). Η ανώμαλη προμετωπιαία λειτουργία, ωστόσο, δεν είναι μοναδικό εύρημα ούτε βρίσκεται σε κάθε έρευνα, και φυσιολογικές (physiological) ανωμαλίες βρίσκονται επίσης και σε άλλες περιοχές που συνδέονται ανατομικά με τον προμετωπιαίο φλοιό, ειδικά στους κροταφικούς και βρεγματικούς φλοιούς, την παρεγκεφαλίδα, το ραβδωτό και το θάλαμο (Andreasen et al., 1997, 1998; Buchsbaum et al., 1996; Bussato et al., 1994; Callicott et al., 2000a). Υπο-ενεργοποίηση ενός διανεμημένου δικτύου διασυνδεδεμένων φλοιϊκών και υποφλοιϊκών περιοχών έχει επίσης περιγραφεί συχνά σε πειραματόζωα (Lipska και Weinberger, 2000). Σε προμετωπιαίο φλοιό ο οποίος έχει αναπτυχθεί κανονικά, η ντοπαμινεργική ενεργοποίηση κατά τη διάρκεια ορισμένων στρεσογόνων παραγόντων οδηγεί στην εστίαση της προμετωπιαίας δραστηριότητας και στην μείωση της δραστηριότητας της ντοπαμίνης στον μεσεγκέφαλο, βοηθώντας ίσως στο να συγκεντρωθούν γνωστικοί πόροι προς μια στρατηγική δράση. Αντίθετα, στα ζώα, η ντοπαμινεργική ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού με αναπτυξιακές ανωμαλίες αποδιοργανώνει την προμετωπιαία δραστηριότητα και οδηγεί σε μια παράδοξη αύξηση της λειτουργίας της ντοπαμίνης στον μεσεγκέφαλο. Επιπλέον, τα πρόσφατα χρόνια, συσσωρεύονται στοιχεία, από ζώα και από πρωτεύοντα, που παρέχουν περαιτέρω υποστήριξη στην ντοπαμινεργική υπόθεση της σχιζοφρένειας η οποία προσβέυει ότι υπάρχει μια υπερ-ντοπαμινεργική κατάσταση στις υποφλοιϊκές περιοχές (συνδεδεμένη ίσως με τα θετικά συμπτώματα) και μια υπο-ντοπαμινεργική κατάσταση στις φλοιϊκές περιοχές (που πιθανώς σχετίζονται με τα αρνητικά συμπτώματα και τη γνωστική εξασθένηση) (Weinberger et al., 2001).

Αυτές οι μελέτες παρέχουν επίσης ένα πλαίσιο για τη διευκρίνιση του πρώτου ειδικού βιολογικού μηχανισμού με τον οποίο ένα γονίδιο αυξάνει την ευαισθησία για τη σχιζοφρένεια. Ο COMT Val158Met πολυμορφισμός μπορεί να σχετίζεται με την ευαισθησία στη σχιζοφρένεια καθώς ο προμετωπιαίος υπο-ντοπαμινεργισμός μπορεί να οφείλεται, εν μέρει, στον αυξημένο καταβολισμό της DA από μια πιο ενεργή μορφή της COMT. Έτσι, το Val αλληλόμορφο γονίδιο θα αύξανε τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια. Σε συμφωνία με αυτό, το να κληρονομήσει κάποιος το Val αλληλόμορφο γονίδιο έχει βρεθεί σε μερικές μελέτες συσχέτισης που βασίζονται σε οικογένειες ότι αυξάνει ελαφρώς τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια (Li et al., 1996, 2000; Kunugi et al., 1997; Egan et al., 2001; Akil et al., 2003; Wonodi et al., 2003). Επιπρόσθετα, οι παραλλαγές του COMT γονότυπου ασκούν επίδραση στην επίδοση σε PFC-εξαρτώμενες δοκιμασίες στη σχιζοφρένεια. Το Met αλληλόμορφο γονίδιο σχετίζεται αντίστροφα με τα λάθη «εμμονής» στο WCST σε ασθενείς με σχιζοφρένεια (Egan et al., 2001; Joobar et al., 2002), εξηγώντας το 4% περίπου της απόκλισης στην απόδοση στο WCST. Ο Nolan και οι συνάδελφοι του (2004) βρήκαν ότι οι σχιζοφρενείς ασθενείς με Met/Met γονότυπο κάνουν καλύτερη χρήση της μιμητικής μάθησης, ενώ έχουν χειρότερη επίδοση στην αντίστροφη μάθηση (reverse learning). Ο COMT γονότυπος συνδέεται επίσης με τις απαιτήσεις της μνήμης εργασίας όπως φαίνεται από την επίδοση στο N-Back (Goldberg et al., το 2003), με το Met αλληλόμορφο γονίδιο να συνδέεται με αποδοτικότερη νευρωνική απόκριση σε αυτήν την δοκιμασία, η οποία μετρήθηκε με fMRI ως αιμοδυναμική ενεργοποίηση του πλαγιο-ραχιαίου PFC και του οπίσθιου ταινιωτού φλοιού κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης του έργου (Egan et al., 2001). Ο Bilder και οι συνάδελφοι του (2002), σε μια άλλη μελέτη με χρόνιους σχιζοφρενείς ασθενείς, βρήκαν ότι το Met αλληλόμορφο γονίδιο είναι συνδεδεμένο με την ταχύτητα επεξεργασίας και με την προσοχή.

Υπάρχουν, επίσης, αυξανόμενες αποδείξεις ότι ο Val158Met γονότυπος μπορεί να επηρεάσει τη γνωστική απόκριση στα αντιψυχωσικά φάρμακα στους σχιζοφρενείς ασθενείς. Πρόσφατα, ο Bertolino και οι συνάδελφοι του (2004) ανέφεραν ότι ο γονότυπος προβλέπει την απόδοση της μνήμης εργασίας και την ενεργοποίηση του πλαγιο-ραχιαίου προμετωπιαίου φλοιού σε μια ομάδα σχιζοφρενών ασθενών μετά από 8 εβδομάδες θεραπείας με ολανζαπίνη. Συγκεκριμένα, το Met αλληλόμορφο γονίδιο προέβλεψε τη βελτίωση στην προμετωπιαία φυσιολογία (physiology), και στην N-Back δοκιμασία μνήμης εργασίας, όπως αξιολογείται με fMRI. Οι Val ομοζυγώτες δεν κατέδειξαν καμία τέτοια βελτίωση. Ο Weickert και οι συνάδελφοι του (2004) ανέφεραν εντυπωσιακά παρόμοια ευρήματα καθώς εξέταζαν τη σχέση μεταξύ του Val158Met γονότυπου και της γνωστικής απόκρισης στα αντιψυχωσικά φάρμακα σε σχιζοφρενείς ασθενείς. Σε είκοσι ασθενείς χορηγήθηκε μια συστοιχία με γνωστικές δοκιμασίες, μια φορά μετά από 4 εβδομάδες αντιψυχωσικής θεραπείας, και μια μετά από 4 εβδομάδες χορήγησης ψευδοφαρμάκου (placebo), με έναν σταθμισμένο (counterbalanced), διπλό τυφλό, ενδο-υποκειμενικό σχεδιασμό. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν σημαντικές προόδους στην μνήμη εργασίας μετά τη θεραπεία για τους Met ομοζυγώτες μόνο. Συγκεκριμένα, οι Met ομοζυγώτες έδειξαν βελτιωμένη επίδοση στο N-Back τεστ κατά τη διάρκεια χορήγησης του αντιψυχωσικού φαρμάκου σχετικά με την επίδοσή τους κατά τη διάρκεια της περιόδου χορήγησης του ψευδοφαρμάκου. Αντίθετα, οι Val ομοζυγώτες δεν έδειξαν καμία τέτοια βελτίωση και η επίδοσή τους ήταν σημαντικά πιο χαμηλή από τους

Met ομοζυγώτες. Εντούτοις, το Val αλληλόμορφο γονίδιο της COMT, δεν είναι αναγκαίος, ή επαρκής, αιτιολογικός παράγοντας της σχιζοφρένειας, ούτε είναι πιθανό να αυξήσει τον κίνδυνο μόνο για τη σχιζοφρένια· εντούτοις, η βιολογική επίδρασή του στη προμετωπιαία λειτουργία και η σχέση της προμετωπιαίας λειτουργίας με τη σχιζοφρένια υπονοούν την ύπαρξη ενός μηχανισμού ο οποίος αυξάνει την προδιάθεση για τη διαταραχή. Επιπλέον, η COMT είναι ένας υποσχόμενος και βολικός θεραπευτικός στόχος για τη γνωστική δυσλειτουργία στη σχιζοφρένια.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια προσπάθεια να διερευνηθεί περαιτέρω ο ρόλος του COMT Val158Met πολυμορφισμού στις γνωστικές λειτουργίες σε υγιείς άνδρες εθελοντές. Πέραν της μνήμης εργασίας (n-Back test) και της γνωστικής ευελιξίας (Wisconsin Card Sorting test) που έχουν ήδη μελετηθεί, επεκτείναμε την μελέτη του ρόλου του COMT Val158Met πολυμορφισμού και σε δοκιμασίες επίλυσης προβλημάτων, επιλεκτικής προσοχής, και οπτικής προσοχής. Υποθέσαμε ότι οι Met ομοζυγώτες θα έχουν καλύτερη επίδοση από τους ετεροζυγώτες και οι τελευταίοι θα έχουν καλύτερη επίδοση από τους Val ομοζυγώτες.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΑ:

Οι συμμετέχοντες ήταν 66 υγιείς άνδρες εθελοντές με μέση ηλικία τα 27 έτη (SD=4.4). Όλοι υπέγραψαν ενημερωμένη συγκατάθεση. Κανείς δεν είχε κάνει κατάχρηση ναρκωτικών και οινοπνεύματος για τουλάχιστον 6 μήνες. Μετρήσαμε, επίσης, το ιδιοσυγκρασιακό τους άγχος επειδή είναι γνωστό ότι επηρεάζει την επίδοση στα νευροψυχολογικά τεστ. Η γνωστική λειτουργία αξιολογήθηκε με δοκιμασίες μνήμης εργασίας, γνωστικής ευελιξίας, οπτικής προσοχής, επιλεκτικής προσοχής και επίλυσης προβλημάτων (δές παρακάτω). Τέλος, έγινε συλλογή δειγμάτων αίματος από όλους τους συμμετέχοντες για εξαγωγή του DNA. Από τους 66 συμμετέχοντες, οι 37 είχαν Val/Met γονότυπο, οι 10 είχαν Met/Met και οι 19 είχαν Val/Val γονότυπο.

GENOTYPING OF THE VAL158MET POLYMORPHISM:

Έγινε λήψη 15mL φλεβικού αίματος και η απομόνωση του DNA έγινε με την χρήση του Flexigene DNA extraction kit (Qiagen). Η ποσότητα και η ποιότητα του DNA στην συνέχεια ελέγχθηκε τρέχοντας 2μl σε gel αгарόζης 0,8% και με φωτομέτρηση, όπου μετρήθηκε η ποσότητα και η καθαρότητα. Όλα τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν λόγο απορρόφησης 260nm προς 280nm, μεταξύ 1,7 ως 1,9. Στην συνέχεια το απομονωμένο DNA αραιώθηκε σε συγκέντρωση 40ng/μl και φυλάχθηκε στους 4 C.

Με την μέθοδο της PCR πολλαπλασιάσαμε ένα τμήμα 283bp στην περιοχή του ιντρονίου – εξωνίου 2 του COMT γονιδίου στο 22q11 χρωμόσωμα. Έγινε χρήση των παρακάτω εκκινητών (Primers):

- Forward Primer: CATCACCATCGAGATCAACC
Tm:
GC%:
- Reverse Primer: GCAGTTTACCCAGAGCTGTG

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την PCR είναι τα παρακάτω:

1. DNA template: 4 μl (160ng)
2. Buffer 10x: 5 μl
3. dNTPs: 5 μl (2mM)
4. MgCl₂: 5 μl (2,5mM)
5. Forward Primer: 1 μl (20pmol)
6. Reverse Primer: 1 μl (20pmol)
7. Taq polymerase: 0,5 μl (2,5 U)
8. ddH₂O

Ο συνολικός όγκος της PCR αντίδρασης ήταν 50 μl. Οι συνθήκες όπου εκτελέστηκε η PCR είναι οι παρακάτω:

Βήμα	Θερμοκρασία	Χρόνος	Κύκλοι
1	95°C	3 min	1
2	94°C	45sec	35
	61°C	45sec	
	72°C	30 sec	
3	72°C	5 min	1

Μετά το τέλος της αντίδρασης 5 μl από το PCR product τα τρέξαμε σε gel αγαρόζης 1,2% και τα εμφανίσαμε με ethidium bromide staining, ώστε να επιβεβαιωθεί ο πολλαπλασιασμός του προϊόντος.

Στην συνέχεια η μέθοδος RFLP ολοκληρώθηκε με την χρήση του περιοριστικού ενζύμου NlaIII. Το ένζυμο αυτό αναγνωρίζει την αλληλουχία:



Στην περίπτωση που ο πολυμορφισμός μας περιέχει αδενοσίνη έναντι της γουανίνης, μια επιπλέον θέση αναγνωρίζεται από το ένζυμο. Πέρα από αυτήν την θέση στο τελικό PCR προϊόν μας υπήρχαν άλλες δύο θέσεις όπου δρούσε η ενδονουκλεάση.

Συνοπτικά τα τμήματα που αναμένουμε μετά την δράση του ενζύμου αναλόγως τον πολυμορφισμό είναι:

Στην περίπτωση όπου έχουμε γουανίνη, που κωδικεύει για το Val αμινοξύ, τα σημεία περιορισμού είναι 2 και ο αριθμός των fragments που θα δούμε είναι 3:

85bp,
54bp και
144bp.

Στην περίπτωση της αδενοσίνης, δηλαδή το Met αμινοξύ, έχουμε ένα επιπλέον σημείο περιορισμού και ο αριθμός των fragments ανέρχεται σε 4:

67bp,
18bp,
54bp και
144bp.

Παίρνουμε 25 μl από το PCR product και βάζουμε 5 μl «ενζύμου» σε τελικό όγκο 30 μl. Τα 5 μl «ενζύμου» είναι για κάθε αντίδραση:

NlaIII: 0,8 μl (8 U)
Buffer 4 10x: 3 μl
BSA 100x: 0,3 μl
ddH₂O: 0,9 μl

Αφήνουμε τα δείγματα στους 37 C για περίπου 6 με 8 ώρες και στην συνέχεια τρέχουμε όλο το προϊόν σε gradient (5-20%) gel πολυακρυλαμίδης, όπου το κορυφαίο τμήμα όπου φορτώνουμε τα δείγματα έχει συγκέντρωση πολυακρυλαμίδης 5% και κλιμακωτά αυξάνει στο κατώτερο τμήμα στο 20%. Με αυτή την τεχνική μπορούμε να αφήσουμε στην αρχή τα δείγματα μας να τρέξουν πιο γρήγορα, ώστε να «ξεκολλήσουν», ενώ στη συνέχεια η ολοένα αυξανόμενη συγκέντρωση της πολυακρυλαμίδης «συγκρατεί» τα μικρά fragments που περιέχει η αντίδραση μας. Αφήνουμε τα δείγματα μας να τρέξουν για περίπου μία ώρα στα 120mV μέχρι η χρωστική μας να φτάσει στο κατώτερο τμήμα του gel και στην συνέχεια μεταφέρουμε το gel σε bath βρωμιούχου αιθιδίου για περίπου 45 min. Τέλος με λάμπα UV εμφανίζουμε το gel μας και το φωτογραφίζουμε.

Οι bands που περιμένουμε να δούμε για τον κάθε γονότυπο είναι οι εξής:

	Val/Val	Val/Met	Met/Met
144	---	---	---
85	---	---	
67		---	---
54	---	---	---
18		---	---

Από την παραπάνω εικόνα φαίνεται ότι για την διάκριση του γονότυπου δεν είναι απαραίτητη η εμφάνιση της 18bp ή της 54bp bands. Αρκεί η διάκριση των 144bp, 85bp και 67bp bands για την γονοτυπική ταυτοποίηση. Στην περίπτωση των δειγμάτων μας ήταν δυνατή η διάκριση όλων των bands με την τεχνική που περιγράψαμε παραπάνω.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΓΝΩΣΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ:

N-Back Test: Αυτό είναι ένα τεστ συνεχούς μνήμης εργασίας (προσαρμοσμένο από τον Cohen et al., το 1997) και η επίδοση εξαρτάται από την ικανότητα του υποκειμένου να συγκρατεί παροδικά στην μνήμη του πληροφορίες σχετικές με το ανα χείρας έργο, μέχρι να εκτελέσει το έργο αυτό. Το τεστ απαιτεί από τα υποκείμενα να παρακολουθούν μια σειρά γραμμάτων που παρουσιάζονται διαδοχικά σε μια οθόνη και να αποκριθούν όταν ένα γράμμα είναι (1) ίδιο με το αμέσως προηγούμενο (1-back condition), (2) ίδιο με αυτό που βρισκόταν δύο γράμματα πίσω (2- back condition), ή (3) ίδιο με αυτό που βρισκόταν τρία γράμματα πίσω (3- back condition). Στη 0-back συνθήκη, η οποία εκτελείται δύο φορές, μια στην αρχή και μια στο τέλος του τεστ, τα υποκείμενα πρέπει να αποκριθούν όταν βλέπουν το γράμμα X. Η N-back επίδοση μετριέται ως το ποσοστό των σωστών απαντήσεων μέσα σε κάθε συνθήκη. Επιπλέον, μετρήθηκαν οι χρόνοι αντίδρασης (Reaction Time-RT) για κάθε απάντηση και υπολογίστηκε ο μέσος όρος για κάθε συνθήκη του N-Back (0-1-2-3- Back) για κάθε συμμετέχοντα.

Δοκιμασία Ταξινόμησης καρτών του Wisconsin (Wisconsin Card Sorting Test-WCST):

Αυτό είναι ένα τεστ γνωστικής ευελιξίας και η επίδοση εξαρτάται από την ικανότητα του υποκειμένου για γρήγορη μετατόπιση της προσοχής από συνθήκες που ίσχυαν μέχρι πρότινος σε καινούργιες συνθήκες που μόλις άρχισαν να ισχύουν και οι οποίες θα μεταβληθούν ξανά απαιτώντας εκ νέου μετατόπιση της προσοχής κ.ο.κ. Το τεστ έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον για την αξιολόγηση της λειτουργίας των μετωπιαίων λοβών. Τα υποκείμενα βλέπουν την οθόνη του κομπιούτερ η οποία δείχνει 5 κουτιά. Τα υποκείμενα πρέπει να ταιριάζουν τα περιεχόμενα του κεντρικού κουτιού με αυτά των τεσσάρων περιφερικών κουτιών με βάση το χρώμα, το σχήμα ή τον αριθμό τους. Τα άτομα βλέπουν Feedback στην οθόνη μετά από κάθε απόπειρά τους, το οποίο και τα βοηθάει να ανακαλύψουν σιγά σιγά τον κανόνα ταξινόμησης. Μετά από μια σειρά συνεχών σωστών απαντήσεων, ο κανόνας αλλάζει και τα άτομα πρέπει να προσαρμόσουν τις απόπειρές τους αναλόγως. Το ποσοστό των λαθών εμμονής χρησιμοποιείται περισσότερο επειδή έχουν αποδειχθεί ευαίσθητος δείκτης δυσλειτουργίας του μετωπιαίου λοβού στη σχιζοφρένια. Ως λάθη εμμονής χαρακτηρίζονται οι φορές που το άτομο, μετά την αλλαγή του κανόνα ταξινόμησης, επιμένει στην ίδια απάντηση (που ήταν σωστή πριν την αλλαγή του κανόνα).

Δοκιμασία Παρεμβολής του Stroop (Stroop Color-Word Interference Test):

Αυτή είναι μία δοκιμασία επιλεκτικής προσοχής και η επίδοση εξαρτάται από την ικανότητα του υποκειμένου να αγνοεί μεικτή πληροφορία το ένα συστατικό της οποίας προκαλεί ισχυρή ώθηση για δράση και παρεμβάλλεται στο άλλο ασθενέστερο συστατικό της πληροφορίας στο οποίο το υποκείμενο οφείλει να συγκεντρωθεί επιλεκτικά. Τα υποκείμενα πρέπει μέσα σε 3 διαδοχικές περιόδους 45 δευτερολέπτων να 1) διαβάσουν τα ονόματα των χρωμάτων που είναι γραμμένα με μαύρο μελάνι 2) να ονομάσουν τα χρώματα με τα οποία είναι χρωματισμένες ψευδολέξεις από 5 X (XXXXX) και 3) να ονομάσουν το χρώμα του μελανιού με το οποίο είναι γραμμένα τα ονόματα διαφόρων χρωμάτων που δεν ταιριάζουν μεταξύ τους (πχ το υποκείμενο πρέπει να πει μπλέ όταν δει την λέξη «κόκκινο» γραμμένη με μπλέ μελάνι). Η λέξη «κόκκινο» είναι το συστατικό της μεικτής πληροφορίας που έχει ισχυρή ώθηση για δράση (το υποκείμενο παρασύρεται να πει

«κόκκινο» αντί για μπλέ επειδή η ανάγνωση είναι μια πολύ πιο αυτοματοποιημένη διαδικασία από την κατονομασία χρωμάτων). Οι παραπάνω διαδικασίες καταλήγουν σε τρία σκόρ: ένα σκόρ Λέξεων [Word (W)], ένα σκόρ Χρωμάτων [Colour (C)] και ένα σκόρ Χρωματισμένων-Λέξεων [Colour-Word (CW)]. Η αύξηση στον χρόνο που χρειάζεται για να κατονομάσει κάποιος σωστά το χρώμα του μελανιού των αταίριαστα χρωματισμένων-λέξεων καταλήγει σε λιγότερες κατονομοσίες στην περίοδο των 45 δευτερολέπτων και ονομάζεται «παρεμβολή Stroop» (Stroop *interference*). Τα σκόρ παρεμβολής υπολογίζονται από την διαφορά μεταξύ του C-CW σκόρ. Όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά τόσο μεγαλύτερη είναι η παρεμβολή Stroop και τόσο χειρότερη η επίδοση στο τεστ αυτό.

CANTAB (αυτοματοποιημένη μπαταρία νευροψυχολογικών δοκιμασιών του Κέμπριτζ- Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery):

Μια σειρά αυτοματοποιημένων δοκιμασιών οργανώθηκε σε έναν Acorn BBC Master microcomputer με Microvitec υψηλής ανάλυσης χρώματος και μια Microvitec touch sensitive οθόνη (Owen et al., 1990, 1997). Τα υποκείμενα ήταν καθισμένα ~0.5 μ από την οθόνη και τους ζητήθηκε να αποκρίνονται αγγίζοντας απλά την οθόνη με ένα δάχτυλο. Ολοκλήρωσαν αρχικά ένα “motor screening” έργο (τοποθετώντας ένα δάχτυλο στο κέντρο ενός X που αναβοσβήνει) που τους εξοικείωσε με την εξεταστική διαδικασία. Μετά από ικανοποιητική ολοκλήρωση αυτού του έργου, δόθηκαν στα υποκείμενα οι δοκιμασίες που περιγράφονται εν συντομία παρακάτω.

Stockings of Cambridge τεστ (SOC): Αυτή η δοκιμασία είναι προσαρμογή του τεστ “Tower of London” που αναπτύχθηκε από τους Shallice και McCarthy (Shallice, 1982). Η επίδοση στην δοκιμασία εξαρτάται από την ικανότητα των υποκειμένων να σκέφτονται και να προγραμματίζουν τις κινήσεις που απαιτούνται για την σωστή επίλυση χωροταξικών προβλημάτων αυξανόμενης δυσκολίας, πριν αρχίσουν να εκτελούν την λύση. Τα υποκείμενα παρουσιάζονται με ένα πρόβλημα όπου πρέπει να ρυθμίσουν εκ νέου ένα σύνολο σφαιρών στο κατώτατο μισό της οθόνης, έτσι ώστε οι θέσεις τους να ταιριάζουν με τη ρύθμιση των σφαιρών που παρουσιάζεται στο πάνω μισό της οθόνης. Η αρχική θέση των σφαιρών ποικίλλει έτσι ώστε ο ελάχιστος αριθμός κινήσεων για τη λύση είναι δύο, τρεις, τέσσερις ή πέντε κινήσεις. Τα υποκείμενα ενθαρρύνονται να εξετάσουν τη θέση των σφαιρών στην έναρξη κάθε προβλήματος και να προσπαθήσουν να το λύσουν στον δεδομένο ελάχιστο αριθμό κινήσεων. Ενθαρρύνονται επίσης να μην κάνουν την πρώτη κίνηση ώσπου να είναι βέβαιοι ότι θα μπορούσαν να εκτελέσουν ολόκληρη την ακολουθία που απαιτείται για να λυθεί το πρόβλημα, μεγιστοποιώντας με αυτόν τον τρόπο τις απαιτήσεις σχεδιασμού του έργου. Ο υπολογιστής καταγράφει τον αριθμό κινήσεων που γίνονται από το υποκείμενο για να ρυθμίσουν εκ νέου τις σφαίρες, το οποίο παρέχει τον κύριο δείκτη της απόδοσης. Για κάθε πρόβλημα δοκιμής, μια συνθήκη ελέγχου δίνεται επίσης για να παρέχει ένα μέτρο των βασικών επιπέδων χρόνων έναρξης και εκτέλεσης. Σε κάθε δοκιμή αυτής της συνθήκης ελέγχου, το υποκείμενο απαιτείται να ακολουθήσει μια ακολουθία ενιαίων κινήσεων που εκτελούνται από τον υπολογιστή στο πάνω μισό της οθόνης με την κίνηση της αντίστοιχης σφαίρας στο κάτω μισό. Η μετακίνηση των σφαιρών είναι μια ακριβής αντιγραφή εκείνων που έγιναν από το υποκείμενο στην αντίστοιχη δοκιμή σχεδιασμού. Με την αφαίρεση του χρόνου

απόκρισης από κάθε κίνηση σε αυτήν την συνθήκη ελέγχου από αυτήν της αντίστοιχης κίνησης στις συνθήκες προγραμματισμού εκτιμάται ο καθαρός χρόνος της αρχικής και της μετέπειτα (subsequent) σκέψης. Ο αρχικός χρόνος σκέψης αναφέρεται στο μέσο χρόνο μεταξύ της παρουσίασης του προβλήματος και της πρώτης αφής στην οθόνη, μείον τον αντίστοιχο χρόνο έναρξης από τη συνθήκη ελέγχου. Ο μετέπειτα (subsequent) χρόνος σκέψης αναφέρεται στο χρόνο μεταξύ της επιλογής της πρώτης σφαίρας και της ολοκλήρωσης του προβλήματος, μείον το μέσο χρόνο εκτέλεσης που προέρχεται από το αντίστοιχο πρόβλημα στη συνθήκη ελέγχου.

Χρόνος αντίδρασης (RTI): Αυτή η δοκιμασία περιέχει τρεις φάσεις πρακτικής και δύο φάσεις δοκιμής. Στο στάδιο πρακτικής εκμάθησης (single pointing), το υποκείμενο καλείται να αγγίξει έναν κύκλο στην οθόνη όσο το δυνατόν γρηγορότερα μετά από την εμφάνιση μιας κίτρινης κουκκίδας μέσα σε αυτόν. Στην πρακτική εξεταστική φάση (5-choice pointing) το υποκείμενο έχει 5 επιλογές. Η κίτρινη κουκκίδα εμφανίζεται μέσα σε έναν από 5 κύκλους στην οθόνη και το υποκείμενο πρέπει να αγγίξει τον κύκλο που την περιέχει όσο το δυνατόν γρηγορότερα. Στην τελευταία πρακτική φάση (single choice release), το υποκείμενο εξοικειώνεται με το press-pad. Το υποκείμενο καθοδηγείται να πιάσει το press-pad και να το αφήσει μόλις δει την κουκκίδα μέσα στον κύκλο. Στη single choice release and point φάση δοκιμής, το υποκείμενο καλείται να αφήσει το press-pad και να αγγίξει τον κύκλο το συντομότερο δυνατόν μετά από την εμφάνιση της κουκκίδας. Τέλος, στην τελευταία φάση δοκιμής (five-choice release and point), 5 κύκλοι εμφανίζονται πάλι. Το υποκείμενο πρέπει πάλι να αγγίξει τον κύκλο που περιέχει την κουκκίδα όσο το δυνατόν γρηγορότερα και να μην αφήσει το press-pad εκτός αν δει την κουκκίδα πρώτα.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για να καθοριστεί εάν ο COMT γονότυπος έχει οποιοδήποτε αποτέλεσμα στη γνωστική απόδοση η ανάλυση των δεδομένων εκτελέστηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο για τις κοινωνικές επιστήμες (Statistical Package for the Social Sciences-SPSS/PC). Ανάλογα με την απόκλισή τους από την κανονικότητα, οι δημογραφικές μεταβλητές και τα σκορ των outcome μεταβλητών από τα γνωστικά τεστ των δύο γονοτυπικών γκρουπ συγκρίθηκαν με χωριστές one-way ANOVAs ή με το μη-παραμετρικό Kruskal-Wallis τεστ, όπως κρίθηκε απαραίτητο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά καθώς και το ιδιοσυγκρασιακό άγχος συγκρίθηκαν στις τρεις γονοτυπικές ομάδες (Πίνακας 1). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ηλικία, χρόνια εκπαίδευσης, καπνιστές και μη, αριθμό τσιγάρων ή στο άγχος.

Πίνακας 1. Μέση (\pm SD) ηλικία, χρόνια εκπαίδευσης, ιδιοσυγκρ. άγχος και καπνιστές/μη για κάθε ομάδα.

	Val/Val	Val/Met	Met/Met	F	p
Ηλικία	27.5 \pm 4.13	25.7 \pm 4.3	27.1 \pm 4.3	1.3	>0.1
Εκπαίδευση	16.5 \pm 2.5	16.7 \pm 2.7	17.2 \pm 2.7	<1	>0.1
Ιδιοσυγκρασιακό Άγχος	38.5 \pm 7.9	36.7 \pm 9.3	36.4 \pm 5.4	<1	>0.1
Καπνιστές:Μη Καπνιστές	10:9	18:19	5:5	X ² <1	>0.1
Τσιγάρα την ημέρα	10.3 \pm 10.6	8.6 \pm 10.3	9.1 \pm 13.6	<1	>0.1

Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των γνωστικών επιδόσεων για κάθε νευροψυχολογικό τεστ στις τρεις ομάδες.

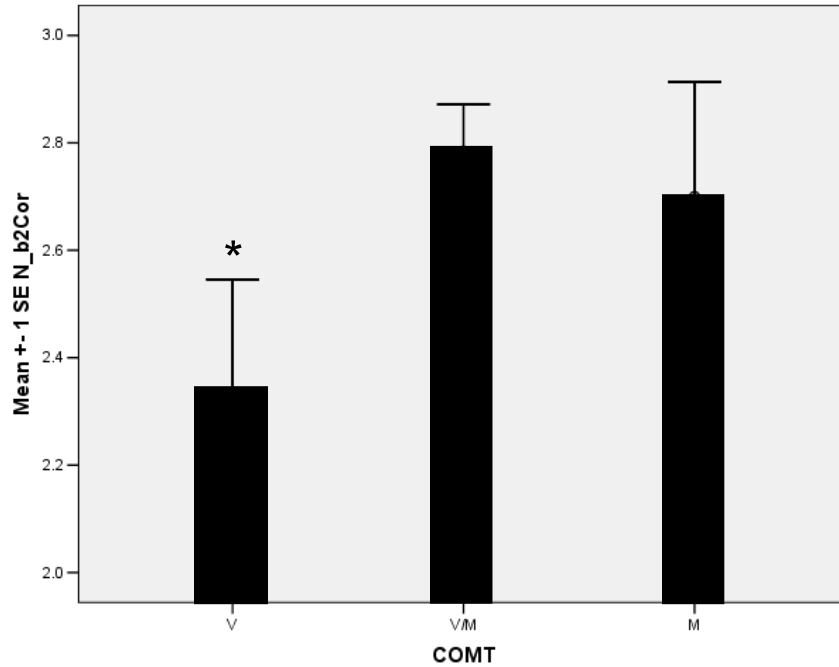
Πίνακας 2. Μέσος όρος (\pm SD) γνωστικής επίδοσης για κάθε τεστ στα τρία γκρουπ

	Val/Val	Val/Met	Met/Met
2-Back (σωστές αποκρίσεις)*	2.3 \pm 1	2.8 \pm 0.5	2.7 \pm 0.7
3-Back (σωστές αποκρίσεις)*	0.55 \pm 0.03	0.6 \pm 0.02	0.66 \pm 0.1
5-choise χρόνος κίν., ms*	402.0 \pm 120.3	364.2 \pm 117.9	353.9 \pm 45.2
5-choise χρόνος αντιδρ. ms	351.2 \pm 55.5	338.3 \pm 27.0	333.1 \pm 49.7
Αρχ. Χρόνος Σκέψης, ms*	18224 \pm 28702	12300 \pm 10269	14017 \pm 10992
Μετέπειτα Χρ. Σκέψ., ms*	1533 \pm 2110	1740 \pm 5015	689 \pm 487
Λυμένα Προβλήματα*	9.7 \pm 2	9.6 \pm 2	10.4 \pm 1.3
Στρατηγική	30.8 \pm 3	31.4 \pm 4.5	30.5 \pm 3.8
%Εμμένοντα Λάθη*	23.1 \pm 21.9	18.1 \pm 20.2	13.9 \pm 14.7
Παρεμβολή (C-CW)*	27.5 \pm 12.3	28.6 \pm 10.1	24.9 \pm 8.2

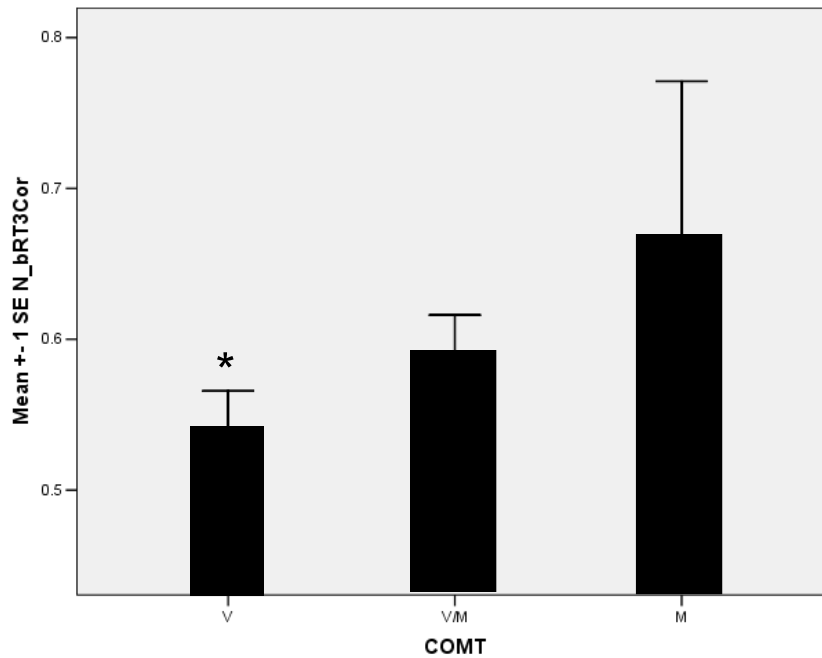
(*μη παραμετρικό Kruskal-Wallis test).

Βρήκαμε μια κύρια επίδραση του COMT γονότυπου στην 2-and 3-Back επίδοση. Είναι φανερό ότι οι Val ομοζυγώτες έχουν λιγότερες σωστές απαντήσεις σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες ακόμα και στο ευκολότερο 2-back (Σχ.4) και μια καθαρή επίδραση του γονιδιακού περιεχομένου σε Val ήταν επίσης φανερή στο πιο δύσκολο 3-back version του τεστ (Σχ.5) με τα Val/Val υποκείμενα να είναι τα χειρότερα, τα Met/Met τα καλύτερα και τα Val/Met ενδιάμεσα .

Σχ.4. Μνήμη Εργασίας (2-back)

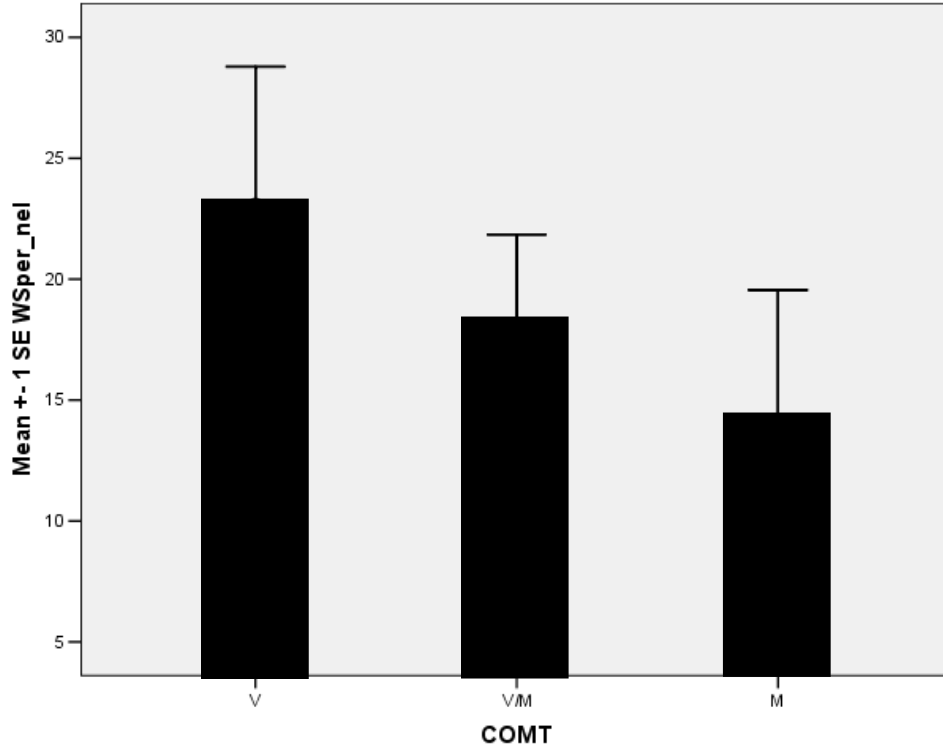


Σχ. 5. Μνήμη Εργασίας (3-back)



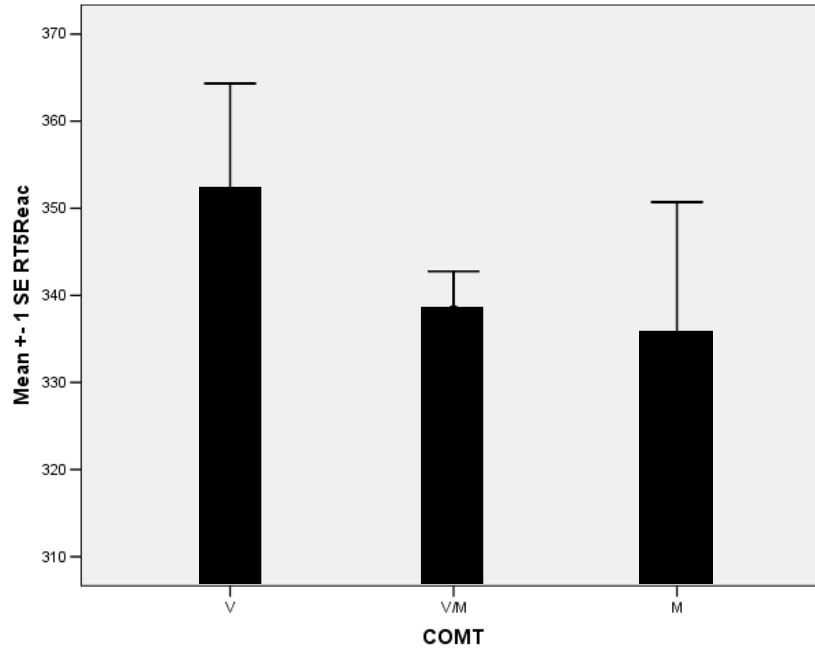
Επίδραση του γονιδιακού περιεχομένου σε Val ήταν επίσης φανερή στο WCST όπου οι Val/Val έχουν τα περισσότερα εμμένοντα (perseverative) λάθη και οι Met/Met να έχουν τα λιγότερα (Σχ.6).

Σχ.6. Η μετατόπιση προσοχής και η ανακάλυψη των κανόνων (Wisconsin Card Sorting Test)

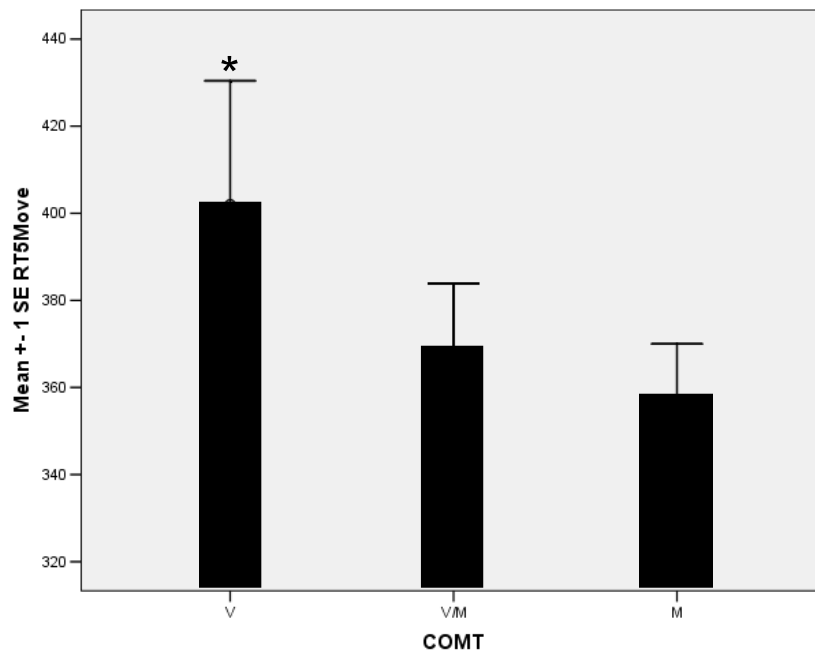


Οι 3 γονοτυπικές ομάδες δεν διέφεραν σημαντικά στον χρόνο αντίδρασης στο 5-RTI τεστ (Σχ.7) αλλά υπήρξε ξανά επίδραση του γονιδιακού περιεχομένου σε Val στον χρόνο εκτέλεσης (Σχ.8), με τους Val/Val να είναι οι πιο αργοί.

Οπτικο-χωρική Προσοχή (5-Choice Reaction Time test)
Σχ.7. Χρόνος Αντίδρασης



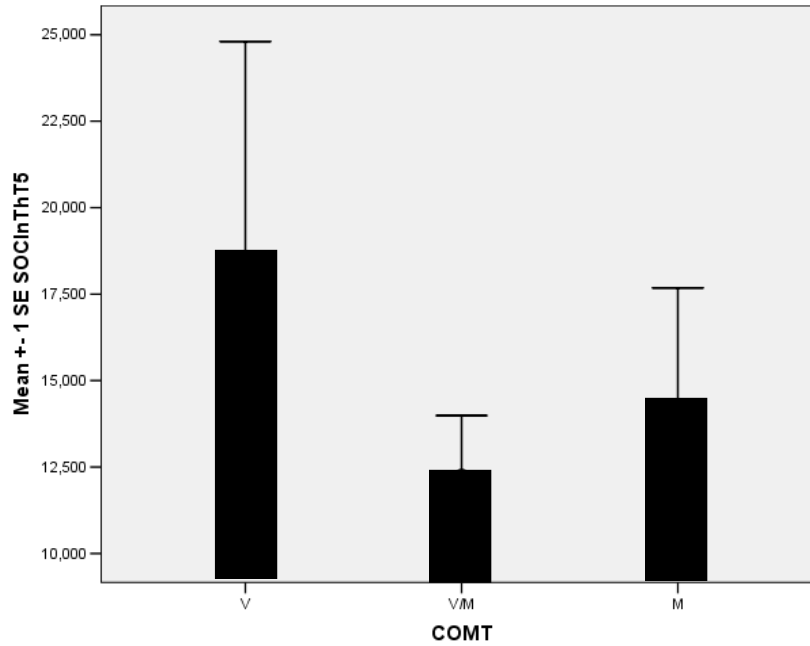
Σχ.8. Χρόνος Εκτέλεσης



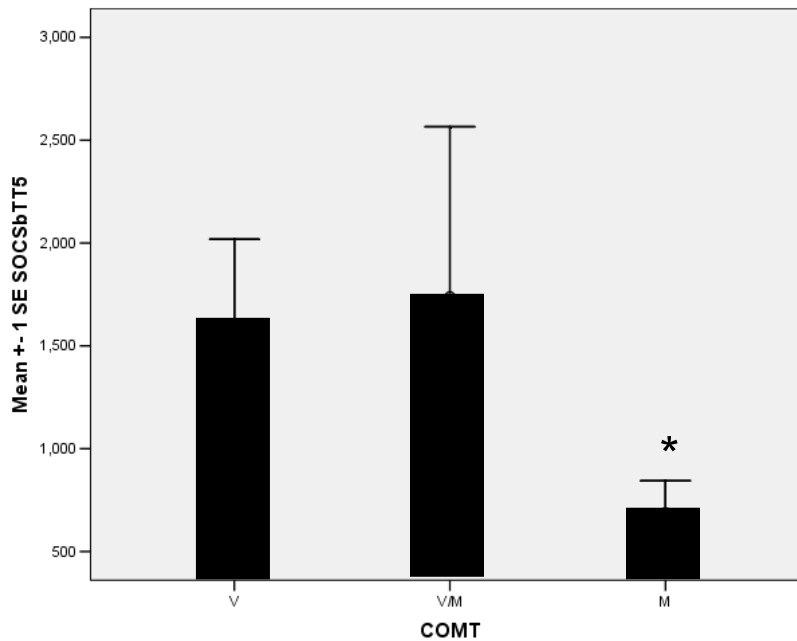
Στο SOC τεστ ο Met/Met γονότυπος σχετίστηκε με μικρότερους χρόνους μετέπειτα σκέψης (Σχ.10) και με περισσότερα λυμένα προβλήματα (Σχ.11) με τον ελάχιστο αριθμό κινήσεων. Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση με τον αρχικό χρόνο σκέψης (Σχ.9).

Σχεδιασμός και Επίλυση Προβλημάτων (Stockings of Cambridge test)

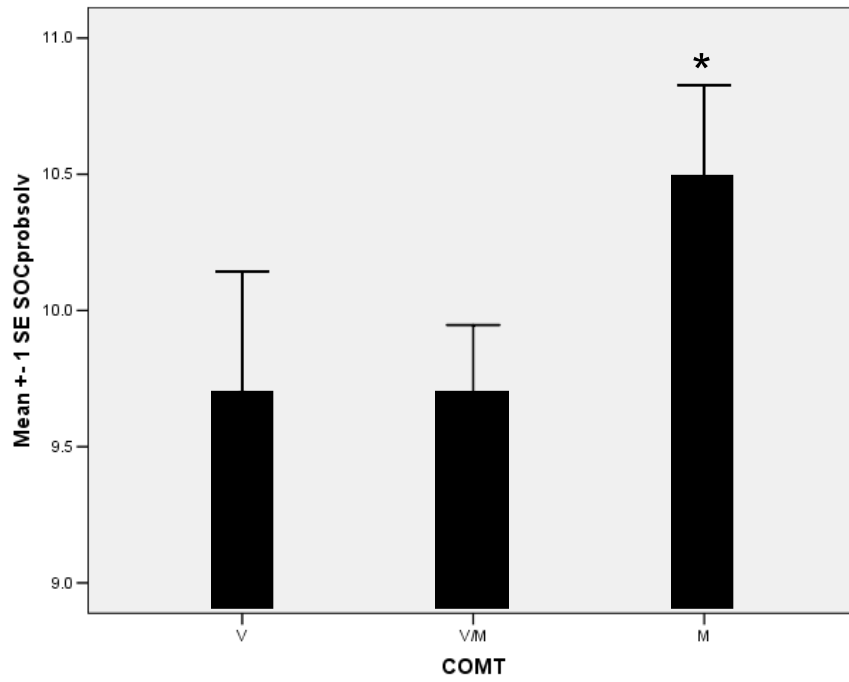
Σχ.9. Χρόνος Σκέψης (5-κινήσεων προβλήματα)



Σχ.10. Χρόνος Εκτέλεσης (5-κινήσεων προβλήματα)

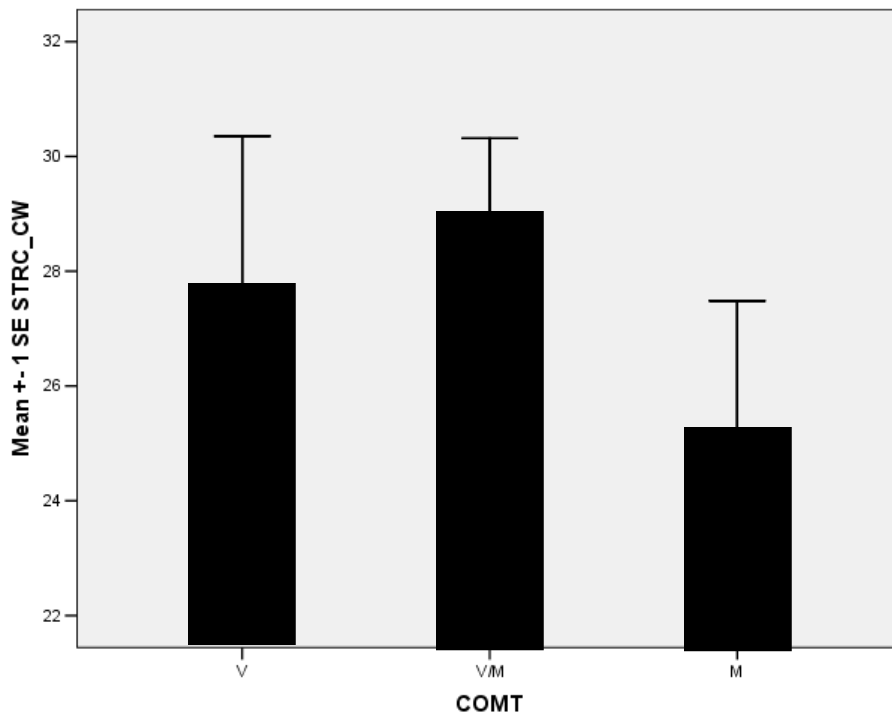


Σχ.11. Λυμένα Προβλήματα (όλα τα προβλήματα)



Δεν βρέθηκε σημαντική επίδραση στο Stroop τεστ αν και πάλι οι Met/met φαίνεται να έχουν καλύτερη επίδοση από τα άλλα δύο γκρουπ.

Conflict resolution και επιλεκτική προσοχή (Stroop Color-Word Intereference test)



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην μελέτη αυτή παρουσιάσαμε ευρήματα που υπονοούν επίδραση του COMT γονοτύπου στην ευρύτερη προμετωπιαία φλοιική λειτουργία σε μία σειρά από tests ανώτερων λειτουργιών που δείχνει ότι ο ρόλος του γονοτύπου αυτού δεν περιορίζεται μόνο στην μνήμη εργασίας. Αναπαραγάγαμε προηγούμενα αποτελέσματα για την μνήμη εργασίας και το WCST (γνωστική ευελιξία) και επεκτείναμε την επίδραση του COMT Val158Met πολυμορφισμού για πρώτη φορά και σε άλλες πτυχές των ανώτερων γνωστικών λειτουργιών όπως οπτικο-χωρική προσοχή και επίλυση σύνθετων προβλημάτων. Η επίδοση στις περισσότερες από αυτές τις δοκιμασίες εξαρτήθηκε από το ποσοστό γονιδιακού περιεχομένου σε Val (Val/Val < Val/Met < Met/Met).

Η N-Back δοκιμασία απαιτεί όχι μόνο τη διατήρηση, την ενημέρωση (updating) και τη τοποθέτηση σε σειρά των γραμμάτων, αλλά και την παρεμπόδιση απάντησης στο γράμμα που βρίσκεται εκείνη τη στιγμή στην οθόνη, και την επιλογή από τέσσερις εναλλακτικές απαντήσεις. Περιέχει, λοιπόν, μεγάλη σύγκρουση ερεθίσματος-απόκρισης και μπορεί να έχει μεγαλύτερες απαιτήσεις στις διαδικασίες εκτελεστικού ελέγχου. Η τάση που βρήκαμε οι Met/Met να έχουν καλύτερη επίδοση από τις άλλες ομάδες είναι σύμφωνη με την προηγούμενη βιβλιογραφία (Diamond et al., 2004; Egan et al., 2001; Bilder et al., 2004; Nolan et al., 2004) και προτείνει ότι αυτό το είδος δοκιμασιών εξαρτάται ιδιαίτερα από τα επίπεδα ντοπαμίνης στον PFC. Αυτά τα αποτελέσματα προτείνουν ότι το Met αλληλόμορφο γονίδιο αυξάνει την τονική διαβίβαση ντοπαμίνης στον PFC και με αυτόν τον τρόπο αυξάνει τη σταθερότητα του δικτύου που διαμεσολαβεί την μνήμη εργασίας.

Η σχετική παράταση του μετέπειτα (subsequent) αλλά όχι του αρχικού χρόνου σκέψης στο SOC test μπορεί να απεικονίζει είτε μια τάση για δράση πριν τη διαμόρφωση ενός ολοκληρωμένου σχεδίου δράσης είτε την παραγωγή λιγότερο αποτελεσματικών στρατηγικών (Owen et al., 1990) ή και τα δύο. Συνεπώς, η παράταση του μετέπειτα χρόνου σκέψης στους Val ομοζυγώτες σημαίνει ότι αυτοί οι συμμετέχοντες μπορεί να έπρεπε να σταματήσουν κατά τη διάρκεια εκτέλεσης του έργου για να επαναξιολογήσουν τη λύση του. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν την διαμόρφωση ενός μοτίβου σύμφωνα με το οποίο οι Val ομοζυγώτες χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να σχεδιάσουν και να εκτελέσουν τη λύση αλλά και πάλι λύνουν λιγότερα προβλήματα. Τα Val/Met υποκείμενα σχηματίζουν σχέδιο δράσης πολύ γρηγορότερα από τις άλλες δύο ομάδες αλλά κάνουν πολύ περισσότερο χρόνο να εκτελέσουν τις λύσεις τους, κι αυτό είναι πιθανώς σημάδι παρορμητικής εκτέλεσης λόγω ανεπαρκούς προγραμματισμού. Κατά συνέπεια λύνουν τόσο λίγα προβλήματα όσο και οι Val ομοζυγώτες. Οι Met ομοζυγώτες αντίθετα, σκέφτονται λίγο περισσότερο από τα υποκείμενα με τον Val/Met αλλά όχι τόσο όσο τα υποκείμενα με τον Val/Val γονότυπο και μόλις σκεφτούν τις λύσεις τους τις εκτελούν όχι μόνο γρήγορα αλλά και σωστά, όπως φαίνεται από τους μικρότερους χρόνους μετέπειτα σκέψης και τον μεγαλύτερο αριθμό σωστά λυθέντων προβλημάτων που εμφάνισε αυτή η ομάδα. Όπως παρουσιάζεται από τον Owen et al 1990 καθώς και από τον Newman et al 2003 η επίλυση σύνθετων (δοκιμασίες που περιλαμβάνουν 3 κινήσεις και πάνω) αλλά όχι και απλών προβλημάτων, εξαρτάται από την ακεραιότητα των μετωπιαίων λοβών και επομένως τα ευρήματά μας προτείνουν ότι ο Met/Met γονότυπος συνδέεται με την αποτελεσματικότερη προμετωπιαία λειτουργία.

Στην δοκιμασία 5-RTI ο χρόνος αντίδρασης δείχνει τον χρόνο που απαιτείται για την έναρξη της κίνησης και εννοιολογικά είναι παρόμοιος με τον αρχικό χρόνο σκέψης του SOC. Ο χρόνος κίνησης αναφέρεται στον χρόνο που απαιτείται για την εκτέλεση (από την έναρξη της κίνησης μέχρι την επιλογή του στόχου) και θεωρείται ότι αντανάκλα την αποτελεσματικότητα της κατανομής των πόρων προσοχής σε αυτό το σύνθετο οπτικό τέστ. Η εκτέλεση της δοκιμασίας 5-RTI προβάλλει μεγαλύτερες απαιτήσεις στην οπτική προσοχή και απαιτεί μια σύνθετη κινητική απάντηση δεδομένου ότι τα υποκείμενα πρέπει να απελευθερώσουν ένα κουμπί και έπειτα να αγγίξουν στην οθόνη επαφής όποιο από τα πέντε ερεθίσματα στόχους έχει υποδειχθεί. Εάν το αλληλόμορφο γονίδιο Val συνδέεται με μια σχετική ανεπάρκεια στην επεξεργασία πληροφοριών [δηλ. με αυξημένο νευρωνικό θόρυβο στον PFC (περισσότερος θόρυβος σε σχέση με το ερέθισμα στόχο)] τότε ο αυξημένος χρόνος εκτέλεσης μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα προσαρμοστικό μηχανισμό για να αποτραπεί η απάντηση στο θόρυβο (Stuss et al 2005).

Κατά συνέπεια, φαίνεται ότι ο COMT Val158Met πολυμορφισμός εμπλέκεται σε περισσότερες πτυχές των ανώτερων λειτουργιών από όσο πιστευόταν μέχρι τώρα. Τα αποτελέσματά μας προτείνουν ότι το Met αλληλόμορφο γονίδιο συνδέεται όχι μόνο με ανώτερη μνήμη εργασίας, γνωστική ευελιξία και εναλλαγή πλαισίου, αλλά και με ανώτερη οπτικο-χωρική εκτελεστική προσοχή και ικανότητα για επίλυση σύνθετων προβλημάτων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης μπορεί, επίσης, να έχουν επιπτώσεις στη βελτίωση των γνωστικών ελλειμμάτων που συνδέονται με τη σχιζοφρένεια. Το γεγονός ότι οι γενετικές διαφορές μπορούν να αλληλεπιδράσουν με άλλους παράγοντες όπως το γνωστικό φορτίο και να επηρεάσουν το πώς οι ντοπαμινεργικοί παράγοντες διαμορφώνουν την προμετωπιαία λειτουργία μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμο στον χειρισμό των ασθενών. Μεταβάλλοντας την ισορροπία στην ντοπαμινεργική D2 έναντι της D1 ενεργοποίησης στον προμετωπιαίο φλοιό, που είναι δυνατό να επιτευχθεί με άτυπα νευροληπτικά φάρμακα (Winterer και Weinberger 2004), είναι πιθανή η βελτιστοποίηση της προμετωπιαίας λειτουργίας κατά τη διάρκεια γνωστικής επεξεργασίας. Επιπλέον, τα αποτελέσματά μας προτείνουν ότι οι αναστολείς της COMT αναμένεται να έχουν θετικά αποτελέσματα στην οπτική προσοχή, την μνήμη εργασίας, την γνωστική ευελιξία, την ικανότητα για επίλυση προβλημάτων των σχιζοφρενών ασθενών με Val/Val γονότυπο, ίσως λόγω της ανεστραμμένου-U-σχήματος σχέσης μεταξύ των επιπέδων ντοπαμίνης και της γνωστικής επίδοσης.

Δέν βρήκαμε σημαντική επίδραση του γονοτύπου στην επίδοση στο Stroop τέστ. Κατα πόσον αυτό αντανάκλα μειωμένη στατιστική ισχύ της μελέτης μας θα αποκαλυφθεί σε μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό υποκειμένων. Προς το παρόν οφείλουμε να υποθέσουμε ότι το τέστ αυτό δεν είναι τόσο ευαίσθητο στις επιδράσεις του γονοτύπου COMT, επειδή είναι το λιγότερο εξαρτημένο από τον προμετωπιαίο λοβό από τα τέστ που χρησιμοποιήσαμε στην μελέτη μας. Πράγματι έχει επανειλημένως δειχθεί σε μελέτες εκτέλεσης του τέστ αυτού και με παράλληλη διεξαγωγή fMRI ότι η κύρια περιοχή που ενεργοποιείται κατά την εκτέλεση του τέστ είναι η έλικα του προσαγωγίου (Peterson et al., 1999).

Ενώ η «ντοπαμινεργική» υπόθεση είναι ελκυστική, ιδιαίτερα όσον αφορά σε ορισμένες θεωρίες για τη σχιζοφρένεια, δεν είναι σαφές ότι τα μετωπιαία DA συστήματα είναι οι κύριοι ή και μοναδικοί στόχοι των παραλλαγών έκφρασης της COMT που έχουν επιπτώσεις στις γνωστικές λειτουργίες. Η COMT είναι ευρέως κατανεμημένη σε όλο το νευροφυλλό και σε περιοχές «κλειδιά» στο ραβδωτό και στο μεταιχμιακό σύστημα που διαμορφώνουν τη γνωστική επίδοση. Επιπλέον, η δράση της COMT δεν περιορίζεται στον καταβολισμό της ντοπαμίνης, αλλά διαδραματίζει έναν ευρύτερο ρόλο στην διάσπαση και άλλων κατεχολαμινών συμπεριλαμβανομένων της νορεπινεφρίνης και της επινεφρίνης, και άλλων ενδογενών κατεχολο-συστατικών.

Ανάμεσα στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης, είναι το μέγεθος του δείγματος που μας αποτρέπει από πιο ακριβείς εκτιμήσεις της σχέσης μεταξύ του γονότυπου και συγκεκριμένων νευρο-γνωστικών ικανοτήτων. Πολλά από τα ευρήματα δεν έφθασαν το $p < 0.05$ επίπεδο σημαντικότητας ($0.05 < p < 0.1$) αλλά πιστεύουμε ότι αυτό είναι μόνο θέμα μειωμένης στατιστικής ισχύος αυτής της πιλοτικής μελέτης. Επιπλέον, αυτή η έρευνα δεν συμπεριέλαβε τον γυναικείο πληθυσμό. Τα αποτελέσματα, ωστόσο, είναι σίγουρα ενθαρρυντικά ώστε να συνεχιστεί αλλά και να επεκταθεί η έρευνα για τις επιδράσεις της COMT στις νευροψυχολογικές λειτουργίες που διαμεσολαβούνται από τον μετωπιαίο λοβό.

Από το μοτίβο των αποτελεσμάτων γίνεται σαφές ότι ο COMT γονότυπος μπορεί να είναι ένας σημαντικός και καθοριστικός παράγοντας περισσότερων πτυχών της γνωστικής λειτουργίας από την μνήμη εργασίας μόνο. Φαίνεται ότι η πρόσφατη Met μετάλλαξη, η οποία δεν έχει αναφερθεί σε μη-ανθρώπινα πρωτεύοντα, βελτιώνει ένα σημαντικό συστατικό της φυσιολογικής ανθρώπινης γνωσίας, προτείνοντας έναν πιθανό ρόλο στην εξέλιξη του ανθρώπινου εγκεφάλου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Akil M, Kolachana BS, Rothmond DA, Hyde TM, Weinberger DR, Kleinman JE (2003). Catechol-O-Methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *J.Neuroscience* 23(6):2008-2013.

Andreasen NC, O'Leary DS, Flaum M, Nopoulos P, Watkins GL, Boles Ponto LL (1997). Hypofrontality in schizophrenia: Distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naïve patients. *Lancet* 349:1730-1734.

Andreasen NC, Paradiso S, O'Leary DS (1998). "Cognitive dysmetria" as an integrative theory of schizophrenia: A dysfunction in cortical-subcortical-cerebellar circuitry? *Schizophr.Bull* 24:203-218.

Bearden CB, Jawad AF, Lynch DR, Sokol S, Kaner SJ, McDonald-McGinn DM, Saitta SC, Harris SE, Moss E, Wang PP, Zackai E, Emanuel BS, Simon TJ (2004). Effects of a functional COMT polymorphism on prefrontal cognitive function in patients with 22q11.2 deletion syndrome. *Am.J.Psychiatry* 161 (9):1700-1702.

Berman I, Viegner B, Merson A, Pappas D, Green AI (1997). Differential relationships between positive and negative symptoms and neuropsychological deficits in schizophrenia. *Schizophr.Res.* 25:1-10.

Berridge CW, Waterhouse BD (2003). The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 42:33-84.

Bertolino A, Caforio G, Blasi G, De Candia M, Lattore V, Petruzzella V (2004). Interaction of COMT (Val108/158Met) genotype and olanzapine treatment on prefrontal cortical function in patients with schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 161:1798-805.

Bilder RM, Volanka J, Czobor P, Malhorta AK, Kennedy JL, Ni Xingqun, Goldman RS, Hoptman MJ, Sheitman B, Lindenmayer JP, Citrome L, McEvoy JP, Kunz M, Chakos M, Cooper TB, Lieberman JA (2002). Neurocognitive correlates of the COMT Val¹⁵⁸Met polymorphism in chronic schizophrenia. *Soc.Biol.Psych.* 52:701-707.

Bilder RM, Volanka J, Lachman HM, Grace AA (2004). The catechol-O-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology* 29:1943-1961.

Blasi G, Mattay VS, Bertolino A, Elvevag B, Callicott JH, Das S, Kolachana BS, Egan MF, Goldberg TE, Weinberger DR (2005). Effect of catechol-O-methyltransferase Val¹⁵⁸Met genotype on attentional control. *J.Neurosci.* 25(20):5038-5045.

Braver TS, Barch DM, Cohen JD (1999). Cognition and control in schizophrenia: a computational model of dopamine and prefrontal function. *Soc.Biol.Psych.* 46:312-328.

Bruder GE, Keilp JG, Xu H, Shikhman M, Schori E, Gorman JM, Gilliam TC (2005). Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotypes and working memory: associations with differing cognitive operations. *Biol.Psych.* 58:901-907.

Buchsbaum MS, Someya T, Teng CY, Abel L, Chin S, Najafi A (1996). PET and MRI of the thalamus in never-medicated patients with schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 153:191-199.

Bussato GF, Costa DC, Ell PJ, Pilowsky LS, David AS, Kerwin RW (1994). Regional cerebral blood flow (rCBF) in schizophrenia during verbal memory activation: A 99 mT-HM-PAO single photon emission tomography (SPET) study. *Psychol.Med.* 24:463-472.

Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, Langheim FJP, Duyn J, Coppola R (2000a). Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb.Cortex* 10:1078-1092.

Callicott JH, Weinberger DR (1999). Neuropsychiatric dynamics: The study of mental illness using functional magnetic resonance imaging. *Eur.J.Radiol.* 30:95-104.

Carr DB, Sesack SR (2001). 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.

Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S (2004a). 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.

Cohen JD, Perlstein WM, Braver TS, Nystrom LE, Noll DC, Jonides J, Smith EE (1997). Temporal dynamics of brain activation during a working memory task. *Nature* 386:604-608.

Diamond A, Briand L, Fossella J, Gehlbach L (2004). Genetic and neurochemical modulation of prefrontal cognitive function in children. *Am.J.Psychiatry* 161:125-132.

Diaz-Asper CM, Weinberger DR, Goldberg TE (2006). Catechol-O-methyltransferase polymorphisms and some implications for cognitive therapeutics. *NeuroRx* 3 (1):97-105.

Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR (2001). Effect of COMT Val 108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:6917-6922.

Fan JB, Zhang CS, Gu NF, Li XW, Sun WW, Wang HY, Feng GY, Clair DS, He L (2005). Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk for schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol.Psych.* 57:139-144.

Floresco SB, West AR, Ash B, Moore H, Grace AA (2003). Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat. Neurosci.* 6:968-973.

Floresco SB, West AR, Grace AA (2004). Reply to “extrasynaptic dopamine and phasic neuronal activity”. *Nat. Neurosci.* 7:199.

Funke B, Malhotra AK, Finn CT, Plocik AM, Lake SL, Lencz T, DeRosse P, Kane JM, Kucherlapati R (2005). COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Behavioral and Brain Functions* 1:19.

Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT (2003). Association between a functional Catechol-O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. *Am.J.Psychiatry* 160:3

Gogos JA, Morgan M, Luine V, Santha M, Ogawa S, Pfaff D (1998). Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:9991-9996.

Goldberg TE, Weinberger DR (1988). Probing prefrontal function in schizophrenia with neuropsychological paradigms. *Schizophr.Bull.* 14:179-183.

Goldberg TE, Egan MF, Gscheidle T, Coppola R, Weickert T, Kolachana BS, Goldman D, Weinberger DR (2003). Executive subprocesses in working memory. *Arch. Gen. Psych.* 60:889-896.

Grace AA (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* 41:1-24.

Grace AA (1993). Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *J.Neural.Transm.Gen.Sect* 91:111-134.

Grace AA (2000). Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res.Brain Res.Rev.* 31:330-341.

Grossman MH, Emmanuel BS, Budarf ML (1992). Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1→22q11.2. *Genomics*12:822-825.

Han DH, Kee BS, Min KJ, Lee YS, Na C, Park DB, Lyoo IK (2005). Effects of Catechol-O-methyltransferase Val 158 Met polymorphism on the cognitive stability and aggression in the first-onset schizophrenic patients. *Clin.Neurosci.Neuropath.* 17 (1):95-99.

Joober 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.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000). *Principles of neural sciences*, 4/e. The McGraw-Hill Companies, USA.

Kunugi H, Vallada HP, Sham PC, Hoda F, Arranz MJ, Li T, Nanko S, Murray RM, McGuffin P, Owen M, Gill M, Collier DA (1997). Catechol-O-methyltransferase polymorphisms and schizophrenia: a transmission disequilibrium study in multiply affected families. *Psychiatr. Genet.* 7:97-101

Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM (1996). Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 6:243-250.

Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR, Whitehead RE, Auh S, Sampson A (2001). Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: regional, laminar, and ultrastructural localization. *J. Comp. Neurol.* 432:119-136.

Li T, Sham PC, Vallada HP, Xie T, Murray RM, Liu X, Collier DA (1996). Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. *Psychiatr. Genet.* 6:131-133.

Li T, Ball D, Zhao J, Murray RM, Liu X, Sham PC, Collier DA (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.

Lipska BK, Weinberger DR (2000). To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 23:223-239.

Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I (1995). Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol-O-methyltransferase: A revised mechanism of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 34:4202-4210.

Malhotra AK, Kestler LJ, Mazzanti C, Bates JA, 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.

Mattay VS, Goldberg TE, Fera F, Hariri AR, Tessitore A, Egan MF, Kolachava B, Callicot JH, Weinberger DR (2003). Catechol-O-methyltransferase Val¹⁵⁸-Met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (10):6186-6191.

- Minzenberg MJ, Xu K, Mitropoulou V, Harvey PD, Finch T, Flory JD, New AS, Goldman D, Siever LJ (2006). Catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype variation is associated with prefrontal-dependent task performance in schizotypal personality disorder patients and comparison groups. *Psych.Genet.* 16 (3):117-124.
- Moghaddam B, Berridge CW, Goldman-Rakic PS, Bunney BS, Roth RH (1993). In vivo assessment of basal and drug-induced dopamine release in cortical and subcortical regions of the anesthetized primate. *Synapse* 13:215-222.
- Moore H, West AR, Grace AA (1999). The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 46:40-55.
- Newman SD, Carpenter PA, Varma S, Just MA (2003). Frontal and parietal participation in problem solving in the Tower of London: fMRI and computational modeling of planning and high-level perception. *Neuropsychologia* 41(12):1668-82.
- Nolan KA, Bilder RM, Lachman HM, Volanka J (2004). Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism in schizophrenia: differential effects of Val and Met alleles on cognitive stability and flexibility. *Am.J.Psychiatry* 161:359-361.
- Owen AM, Downes JD, Sahakian BJ, Polkey CE, Robbins TW (1990). Planning and spatial working memory following frontal lobe lesions in man. *Neuropsychologia* 28:1021-1034.
- Owen AM (1997). Cognitive planning in humans: neuropsychological, neuroanatomical, and neuropharmacological perspectives. *Progress in Neurobiology* 53:431-450.
- Pantelis C, Barnes TRE, Nelson HE, Tanner S, Weatherley L, Owen AM, Robbins TW (1997). Frontal-striatal cognitive deficits in patients with chronic schizophrenia. *Brain* 120:1823-1843.
- Peterson BS, Skudlarski P, Gatenby JC, Zhang H, Anderson AW, Gore JC (1999). An fMRI study of Stroop word-color interference: evidence for cingulate subregions subserving multiple distributed attentional systems. *Biol Psychiatry* 45(10):1237-58.
- 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.
- Rosa A, Peralta V, Cuesta MJ, Zarzuela A, Serrano F, Martinez-Larrea A, Fananas L (2004). New evidence of association between COMT gene and prefrontal neurocognitive function in healthy individuals from sibling pair discordant for psychosis. *Am.J.Psychiatry* 161:1110-1112.

- Sesack SR, Hawrylak VA, Matus C, Guido MA, Levey AI (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.
- Shallice T (1982). Specific impairments in planning. *Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol.Sci.* B298:199-209.
- Smiley JF, Levey AI, Ciliax BJ, Goldman-Rakic PS (1994). D₁ dopamine receptor immunoreactivity in human and monkey cerebral cortex: predominant and extrasynaptic localization in dendritic spines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:5720-5724.
- Stuss DT, Alexander MP, Shallice T, Picton TW, Binns MA, Macdonald R, Borowiec A, Katz DI (2005). Multiple frontal systems controlling response speed. *Neuropsychologia* 43(3):396-417.
- Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR (2006). Catechol-O-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val¹⁵⁸Met and beyond. *Biol.Psychiatry* article in press.
- Weickert TW, Goldberg TE, Mishara A, Apud JA, Kolachava BS, Egan MF, Weinberger DR (2004). Catechol-O-methyltransferase Val^{108/158}Met genotype predicts working memory response to antipsychotic medications. *Biol.Psychiatry* 56:677-682.
- Weinberger DR (1987). Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch.Gen.Psychiatry* 44:660-669.
- Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicot JH, Mattay VS, Lipska BK, Berman KF, Golberg TE (2001). Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 50:825-844.
- Williams GV, Goldman-Rakic PS (1995). Modulation of memory fields by dopamine D₁ receptors in prefrontal cortex. *Nature* 376:572-575.
- Winterer G, Weinberger DR (2004). Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia. *Trends Neurosci* 27:683-690.
- Wonodi I, Stine CO, Mitchell BD, Buchanan RW (2003). Association between Val^{108/158}Met polymorphism of the COMT gene and schizophrenia. *Am.J.Med.Genet.* 120B:47-50.