

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
COMT ΣΕ ΕΛΛΗΝΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΡΤΥΡΕΣ
(Μελέτη των SNPs rs737865, rs4680 και rs165599 της COMT)

ΚΟΤΡΩΤΣΟΥ ΜΑΡΙΑ
ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2012

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

1. Δρακούλης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ
2. Βασιλακοπούλου Διδώ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμ. Βιολογίας ΕΚΠΑ
3. Σιταράς Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Δρακούλης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ
2. Βασιλακοπούλου Διδώ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμ. Βιολογίας ΕΚΠΑ
3. Σιταράς Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
4. Ασπροδίνη Ευτυχία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
5. Αντωνίου Αικατερίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
6. Δεμέτζος Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ
7. Παπαδημητρίου Γεώργιος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ευκαιρία της ολοκλήρωσης της παρούσας διδακτορικής μου διατριβής θεωρώ ιδιαίτερη υποχρέωσή μου να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δρακούλη, για τη γενναιόδωρη βοήθεια και ενθάρρυνση που μου προσέφερε. Με την υποστήριξη και υπομονή του συνέβαλε στην συλλογή, αξιολόγηση και ταξινόμηση των πειραματικών δεδομένων. Έθεσε στη διάθεσή μου τον απαραίτητο εξοπλισμό για το πειραματικό μέρος. Με καθοδήγησε στην κατανόηση και αξιοποίηση της αντίστοιχης βιβλιογραφίας και συνέβαλε ουσιαστικά στην εκπόνηση της παρούσας επιστημονικής εργασίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την αναπληρώτρια καθηγήτρια του Βιολογικού Τμήματος κ. Βασιλακοπούλου Διδώ και τον αναπληρωτή καθηγητή Ιατρικής σχολής κ. Σιταρά Νικόλαο για τις χρήσιμες υποδείξεις τους καθόλη τη διάρκεια συγγραφής της παρούσας διατριβής. Με τις κρίσιμες παρατηρήσεις και διορθώσεις τους συνέβαλαν στον εντοπισμό ελλείψεων και σφαλμάτων και στην τελική διαμόρφωση του κειμένου της διατριβής.

Εκφράζω θερμές ευχαριστίες στα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, την αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Ασπροδίνη Ευτυχία, την επίκουρη καθηγήτρια κ. Αντωνίου Αικατερίνη, τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Δεμέτσο Κωνσταντίνο και τον καθηγητή κ. Παπαδημητρίου Γεώργιο για την υποστήριξη και συνεισφορά τους σε αυτή την προσπάθειά μου.

Τέλος, ένα εγκάρδιο ευχαριστώ οφείλω στον κ. Τουλούμη Χαράλαμπο, Διευθυντή της 10^{ης} κλινικής του Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Αττικής «Δαφνί», για τη συμπαράσταση και το ενδιαφέρον του, αλλά και στους ιατρούς και στους ασθενείς του παραπάνω νοσοκομείου, που χωρίς τη συνεργασία τους δε θα μπορούσε να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
1.1 ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ	8
1.1.1 Ιστορική διαδρομή	8
1.1.2 Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις της σχιζοφρένειας.....	11
1.1.3 Διάγνωση της σχιζοφρένειας	13
1.1.4 Συμπτωματολογία της σχιζοφρένειας	16
1.1.4.1 Θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας	16
1.1.4.2 Αρνητικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας	17
1.1.4.3 Γνωσιακές διαταραχές ασθενών με σχιζοφρένεια	18
1.1.4.4 Συνοδά συμπτώματα ασθενών με σχιζοφρένεια.....	19
1.1.5 Τύποι της σχιζοφρένειας.....	20
1.1.5.1 Σχιζοφρένεια παρανοϊκού τύπου	20
1.1.5.2 Σχιζοφρένεια κατατονικού τύπου	20
1.1.5.3 Σχιζοφρένεια αποδιοργανωμένου τύπου	21
1.1.5.4 Αδιαφοροποίητος τύπος σχιζοφρένειας.....	22
1.1.5.5 Σχιζοφρένεια υπολειμματικού τύπου.....	22
1.1.6 Πορεία της σχιζοφρένειας.....	24
1.1.6.1 Η πρόδρομη φάση.....	24
1.1.6.2 Η ενεργός φάση	24
1.1.6.3 Η υπολειμματική φάση	24
1.1.7 Η θεραπεία στην σχιζοφρένεια	25
1.1.8 Αντιψυχωτικά φάρμακα.....	27
1.1.9 Αίτια της σχιζοφρένειας.....	31
1.1.9.1 Νευροδιαβιβαστικές ουσίες	31
1.1.9.2 Γενετικοί παράγοντες.....	32
1.1.9.3 Περιβαλλοντικοί και ψυχοκοινωνικοί παράγοντες.....	33
1.1.10 Νευροπαθολογικές αλλοιώσεις.....	35
1.2 ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ	38
1.2.1. Νευροβιολογική βάση της σχιζοφρένειας	38
Η υπόθεση της ντοπαμίνης	38
1.2.2 Η διαμόρφωση της νεώτερης ντοπαμινεργικής υπόθεσης.....	40
1.2.2.1 Στοιχεία υπέρ της φλοιϊκής υπολειτουργίας	41
1.2.2.2 Στοιχεία υπέρ της υποφλοιώδους υπερλειτουργίας.....	43
1.2.3 Η εξέλιξη στη νευροχημική απεικονιστική στη σχιζοφρένεια	45
1.2.3.1 Η ντοπαμίνη στις υποφλοιώδεις περιοχές.....	45
1.2.3.2 Η Ντοπαμίνη στον φλοιό	46
1.2.3.3 Αιτιολόγηση της συνύπαρξης αυξημένων επιπέδων ντοπαμίνης στις υποφλοιώδεις περιοχές και ταυτοχρόνως ελλειμματικής ποσότητας στο φλοιό	47
1.2.4 Γενετική αιτιολογία της σχιζοφρένειας	50
1.2.5 Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση σχιζοφρένειας ...	55
1.2.6 Σχιζοφρένεια ή Ψύχωση	57
1.2.7 Σύνδεση των διαταραχών της ντοπαμίνης με την κλινική έκφραση της σχιζοφρένειας.....	58
1.2.8 Η σύγχρονη υπόθεση της ντοπαμίνης.....	60
1.3 ΚΑΤΕΧΟΛ-Ο-ΜΕΘΥΛΟ-ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ (COMT)	62

1.3.1 Περιγραφή του γονιδίου της COMT, πρωτεϊνικές ισομορφές και λειτουργικός του ρόλος του ενζύμου, Val/Met πολυμορφισμός	62
1.3.2 COMT και λειτουργία της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό.....	67
1.3.3 COMT και μοντέλο ανάστροφου 'U'	71
1.3.4 COMT και γνωσιακή λειτουργία: Ανάλογα με τη κατάσταση του προμετωπιαίου φλοιού.....	75
1.3.5 Ο ρόλος της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Μια πιθανή υπόθεση για την αιτιολογία της σχιζοφρένειας.....	79
1.3.6 Ο COMT Val ¹⁵⁸ Met πολυμορφισμός και η συσχέτισή του με την ντοπαμίνη του ραβδωτού σώματος	82
1.3.7 Κατάσταση σταθερότητας και πλαστικότητας του προμετωπιαίου φλοιού ..	88
1.3.8 Φαινοτυπική συσχέτιση του πολυμορφισμού COMT Val158Met και γνωσιακής λειτουργίας	92
1.3.9 COMT Val158Met πολυμορφισμός και ψυχωσικές διαταραχές.....	94
1.3.10 Φυλετικές επιδράσεις στο γονίδιο της COMT.....	97
1.3.11 Μηχανισμός του φυλετικού διμορφισμού της COMT	99
1.4 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΜΙΚΡΟΕΛΛΕΙΜΑΤΟΣ 22Q11 Η ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΥΠΕΡΩΙΟ-ΚΑΡΔΙΟ-ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ (VELO-CARDIO-FACIAL SYNDROME) (VCFS)..	101
1.4.1 Περιγραφή, επιδημιολογία και κλινική εικόνα του συνδρόμου	101
1.4.2 Συσχέτιση του συνδρόμου με τη σχιζοφρένεια	103
1.5 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΛΟΤΥΠΟΥ	107
1.5.1 Τα δεδομένα από τη μοριακή γενετική.....	107
Val/Met	109
1.5.2 COMT και γνωσιακός ενδοφαινότυπος.....	110
1.5.3 Θεραπευτική προσέγγιση της COMT.....	111
1.5.4 Λειτουργικός ρόλος της COMT : όχι μόνο Val158Met	112
1.6 ΣΚΟΠΟΣ.....	113
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	114
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	115
2.1 ΥΛΙΚΑ	115
2.1.1 Ασθενείς και μάρτυρες	115
2.1.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός	116
2.1.2.1 Όργανα.....	116
2.1.2.2 Αναλώσιμα.....	116
2.1.2.3 Αντιδραστήρια	117
2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ.....	118
2.2.1 Δειγματοληψίες.....	118
2.2.2 Απομόνωση Γενετικού Υλικού-DNA.....	119
2.2.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	121
2.2.4 Real time PCR.....	123
2.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΟΥ COMT.....	126
2.3.1 Προετοιμασία της αντίδρασης της PCR	128
2.3.2 Προγραμματισμός του συνδεδεμένου με το Lightcycler [®] 480 Instrument υπολογιστή	129
2.3.3 Ερμηνεία Μετρήσεων.....	133

2.4 ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ COMT	136
2.4.1 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs4680	136
2.4.2 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs165599	139
2.4.3 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs 737865	141
2.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	145
 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	 146
3.1 Ισορροπία Hardy-Weinberg.....	146
3.2 Κατανομή δημογραφικών χαρακτηριστικών, γονοτύπων και αλληλόμορφων ..	148
3.3 Μέθοδοι ανάλυσης.....	151
3.3.1 Γενετικά μοντέλα	151
3.3.2 Λογαριθμική παλινδρόμηση	152
3.4 Λογαριθμική παλινδρόμηση για τη σχέση σχιζοφρένειας και πολυμορφισμών .	153
3.5 Ανάλυση ανά απλότυπο	158
3.6 Διερεύνηση των απλοτύπων T/A/A και T/G/G	159
 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	 163
 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	 178
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	205
ABSTRACT.....	207
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ:Ερμηνεία γενετικών όρων.....	209

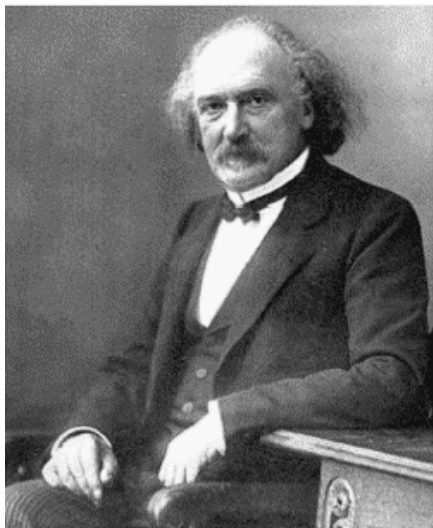
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑ

1.1.1 Ιστορική διαδρομή

Οι πρωϊμότερες αναλυτικές περιγραφές της σχιζοφρένειας ανάγονται στο 1809, και έγιναν από τον John Haslam (Berthlem royal Hospital, London) και τον Philippe Pinel (Salpetriere asylum, Paris), περιέχουν δε όλα εκείνα τα κριτήρια που σήμερα θεωρούνται απαραίτητα για τη διάγνωση και την περιγραφή της διαταραχής. Μέχρι και το 19^ο αιώνα, όμως, η κρατούσα θεωρία όσον αφορά την αιτιολογία των ψυχιατρικών νόσων ήταν η «θεωρία των σωματικών υγρών» (the Humor theory). Σύμφωνα με αυτή κάθε πάθηση οφειλόταν σε υπεροχή ή ανεπάρκεια, αλλά και διαταραχή στη σύσταση ή θερμοκρασία ενός από τα τέσσερα υγρά: μέλαινα χολή, πράσινη χολή, αίμα και φλέγμα. Αυτή η παραδοχή οδήγησε σε τεχνικές όπως η πρόκληση εμετών, η χρήση καθαρτικών, η αφαίμαξη κ.α. Μέχρι το τέλος του 19^ο αιώνα εξάλλου οι ψυχίατροι ονομάζονταν «alienists» όρος που παραπέμπει στο «alien» (=αλλοδαπός, αποξενωμένος από τον εαυτό του).¹

Ένας από αυτούς τους πρώτους «alienists» ήταν και ο Emil Kraepelin,² ένας γερμανός ψυχίατρος, ο οποίος το 1896 διέδωσε σ' όλο τον κόσμο το σύνδρομο που νωρίτερα ο Benedict Augustin Morel (1860)³ (εικόνα 1) είχε ονομάσει «Dementia Praecox» δηλαδή «πρώιμη άνοια», πιστεύοντας ότι πρόκειται για μια άνοια που εμφανίζεται σε νέους (συναισθηματική άνοια).



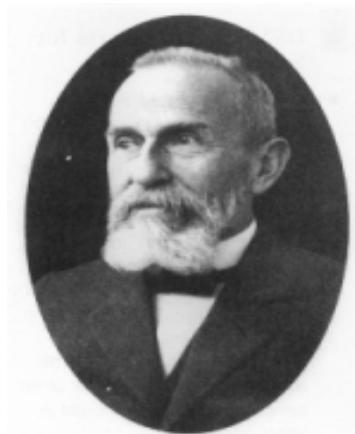
Εικόνα 1. Benedict Augustin Morel

Ο Kraepelin (εικόνα 2) διαφοροποίησε την «πρώιμη άνοια» από τις μανιοκαταθλιπτικές ψυχώσεις και την παράνοια. Οι ασθενείς με «πρώιμη άνοια» παρουσίαζαν καθολική διαταραχή των αντιληπτικών και γνωσιακών λειτουργιών και

πρώιμη έναρξη των συμπτωμάτων τους. Αυτοί με μανιοκαταθλιπτικές ψυχώσεις είχαν κατά κανόνα ανέπαφη τη λειτουργία σκέψης, οψιμότερη εμφάνιση της διαταραχής, μεταγενέστερη έναρξη και επεισοδιακή πορεία της νόσου με τα επεισόδια ψυχοπαθολογίας να εναλλάσσονται με διαστήματα φυσιολογικής λειτουργίας.



Εικόνα 2.
Emil Kraepelin



Εικόνα 3.
Eugene Bleuler

Ο Eugene Bleuler⁴ (εικόνα 3) στη συνέχεια «έχτισε» πάνω στη θεωρία και την περιγραφή του Kraepelin, και τελικά αναίρεσε τον όρο «άνοια» καθώς παρατήρησε ότι ψυχωτικά συμπτώματα εμφανίζονται και σε ανθρώπους που κατόπιν αναρρώνουν πλήρως. Ο Bleuler περιέγραψε τέσσερα θεμελιώδη συμπτώματα: αμφιθυμία, αυτισμός, συναισθηματική άμβλυνση και ασυναρτησία. Για τον Bleuler αυτά τα συμπτώματα αντικατόπτριζαν τη θεμελιώδη διαταραχή στη σχιζοφρένεια: τον διαχωρισμό (τη σχίσση) (splitting) των ψυχονοητικών λειτουργιών, όπως είναι η σκέψη, το συναίσθημα και η συμπεριφορά. Εισήγαγε έτσι τον όρο σχιζοφρένεια (πρώτη φορά το 1908), θεωρώντας επίσης ότι πρόκειται για μια διαταραχή οφειλόμενη σε εγκεφαλική βλάβη άλλη της εκφύλισης που αρχικά είχε υποστηρίξει ο Kraepelin, μιλώντας για άνοια. Ο όρος «σχιζοφρένεια» άρχισε να γίνεται ευρύτερα αποδεκτός από το 1911 και μετά. Το 1911 ο Bleuler δημοσιεύει άρθρο, στο οποίο αιτιολογεί την απόφασή του για μετενομασία της ασθένειας από «πρώιμη άνοια» σε «σχιζοφρένεια». (εικόνα 4).

HANDBUCH DER PSYCHIATRIE.

UNTER MITWIRKUNG VON

PROFESSOR A. ALZHEIMER (MÜNCHEN), PROFESSOR E. BLEULER (ZÜRICH),
PROFESSOR K. BONHOEFFER (BRESLAU), PRIVATDOZENT G. BONVICINI (WIEN),
PROFESSOR O. BUCKE (FREIBURG I. B.), PROFESSOR R. GAUFF (TÜBINGEN),
DIREKTOR A. GROSS (REYCH I. E.), PROFESSOR A. HÖCKE (FREIBURG I. B.), PRIVAT-
DOZENT M. ISSELYN (MÜNCHEN), PROFESSOR T. KIECHOFF (SCHLESWIG), DIREKTOR
A. MECKLIN (TREPTOW A. R.), PROFESSOR E. REDLICH (WIEN), PROFESSOR
M. ROSENFIELD (STRASSBURG I. E.), PROFESSOR P. SCHROEDER (BRESLAU), PROFESSOR
E. SCHULTZE (GRIEFWALD), PRIVATDOZENT W. SPIELMEYER (FREIBURG I. B.),
PRIVATDOZENT E. STRASSKY (WIEN), PROFESSOR H. VÖGT (FRANKFURT A. M.),
PRIVATDOZENT G. VOSS (GRIEFWALD), PROFESSOR J. WAGNER RITTER VON
JACKESS (WIEN), PROFESSOR W. WETZGANT (HAMBURG-FRIEDRICHSBERG)

HERAUSGEGEBEN VON

PROFESSOR DR. G. ASCHAFFENBURG
IN KÖLN A. RH.

SPEZIELLER TEIL.

4. ABTHEILUNG, 1. HALBTE.

DEMENTIA PRAECOX ODER GRUPPE DER SCHIZOPHRENEN.

VON

PROFESSOR E. BLEULER.

LEIPZIG UND WIEN.
FRANZ DEUTICKE.

1911.

DEMENTIA PRAECOX

ODER

GRUPPE DER SCHIZOPHRENEN.

VON

PROF. E. BLEULER.

LEIPZIG UND WIEN.
FRANZ DEUTICKE.

1911.

Εικόνα 4.

Άρθρο του Eugene Bleuler με θέμα «Dementia Praecox» (1911)

1.1.2 Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις της σχιζοφρένειας

Η σχιζοφρένεια είναι μία από τις σοβαρότερες ψυχικές διαταραχές και σχετίζεται με δυσφορία, αναπηρία, επηρεασμό της λειτουργικότητας του ασθενούς, αλλά και φορτίο για το περιβάλλον του πάσχοντος. Αφορά περίπου το 1% του πληθυσμού (lifetime prevalence) και είναι νόσος οικογενική και διαχρονικά παρούσα. Άνδρες και γυναίκες διατρέχουν τον ίδιο κίνδυνο να αναπτύξουν τη νόσο, αν και υπάρχουν διαφορές ως προς την έναρξη (πρωϊμότερη εμφάνιση στους άνδρες), την κλινική εικόνα (υπεροχή των κλινικών και συναισθηματικών συμπτωμάτων στις γυναίκες) και την έκβαση της διαταραχής (η πρόγνωση είναι ευνοϊκότερη για τις γυναίκες τουλάχιστον όσον αφορά την πρώτη δεκαπενταετία της διαταραχής).⁵ Συνήθως τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται κατά την εφηβεία και νωρίς στην ενήλικη ζωή (μέση ηλικία εμφάνισης το 21^ο έτος για τους άνδρες και το 27^ο για τις γυναίκες), χωρίς όμως να αποκλείεται και η εμφάνισή τους σε οποιαδήποτε ηλικία.⁶

Οι άνθρωποι που πάσχουν από σχιζοφρένεια εμφανίζουν προβλήματα στην αντίληψή τους (ακουστικές ψευδαισθήσεις), στη σκέψη τους (παραληρητικές ιδέες, ασυναρτησία, ιδέες αυτοαναφοράς ή συσχέτισης) και τη συμπεριφορά (ψυχοκινητική διέγερση ή αναστολή). Τα συμπτώματα της διαταραχής επηρεάζουν την ικανότητα του ατόμου να αλληλεπιδρά με άλλους ανθρώπους και συχνά οι πάσχοντες αποσύρονται από την πραγματικότητα που τους περιβάλλει.

Η σχιζοφρένεια είναι η κατεξοχήν ψυχική νόσος που περιβάλλεται από μία πληθώρα μύθων, οι οποίοι έχουν σοβαρές επιπτώσεις στη ζωή των ασθενών και στις οικογένειές τους. Έτσι, οι άνθρωποι που πάσχουν από σχιζοφρένεια θεωρούνται «διχασμένες προσωπικότητες», «επικίνδυνοι», «επιθετικοί και βίαιοι», «χαμηλής νοημοσύνης», και η νόσος αποτέλεσμα «έλλειψης θέλησης» και «αδυναμίας χαρακτήρα». ⁷ Έτσι, εξ αιτίας της έλλειψης πληροφόρησης και κατανόησης από τον ευρύ κοινωνικό περίγυρο, οι πάσχοντες από σχιζοφρένεια συχνά αισθάνονται και είναι απομονωμένοι, στιγματισμένοι, χωρίς επαγγελματικές και κοινωνικές ευκαιρίες, ενώ είναι πολύ πιθανό να γίνουν θύματα βίας και εγκληματικών ενεργειών παρά να προβούν οι ίδιοι σε βίαιες ενέργειες. ⁸

Η σχιζοφρένεια προκαλεί δυσφορία σε όλους τους εμπλεκόμενους. Οι ίδιοι οι ασθενείς προφανώς υποφέρουν από τη διαταραχή της ζωής τους. Οι συγγενείς και οι φίλοι τους επίσης θα επηρεασθούν συναισθηματικά και θα επιβαρυνθούν και εξ

αιτίας των επιπτώσεων της νόσου στον συγγενή τους, αλλά και εξ αιτίας του ότι επωμίζονται το βάρος της φροντίδας του οικείου τους προσώπου.^{9,10}

Η σχιζοφρένεια είναι μία πολύ σύνθετη ασθένεια και οι επιστήμονες πιστεύουν ότι προκαλείται από έναν ορισμένο αριθμό διαφορετικών παραγόντων, οι οποίοι δρουν συνεργικά. Οι παράγοντες αυτοί είναι γονιδιακοί,¹¹ βιοχημικοί, περιγενετικοί,¹² κοινωνικοί,¹³ ψυχοδυναμικοί¹⁴ κλπ. Ωστόσο, σχετικά με την αιτιοπαθογένεια της νόσου περισσότερα είναι ακόμη τα ερωτηματικά σε σύγκριση με τις απαντήσεις και κανένας μεμονωμένος παράγοντας δεν έχει ακόμη αναγνωριστεί ως η αποκλειστική αιτία της σχιζοφρένειας.

Φαρμακευτικές ή άλλες θεραπευτικές παρεμβάσεις έχουν σκοπό να βοηθήσουν ουσιαστικά στη μείωση και τον έλεγχο των συμπτωμάτων της νόσου όταν ακολουθούνται συστηματικά και σύμφωνα με τις οδηγίες των ειδικών.

Παρά την ανάπτυξη νέων φαρμάκων με σπανιότερες και λιγότερο σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες σε σχέση με τα παλαιότερα και παρά τις διάφορες θεραπευτικές παρεμβάσεις, ένας στους δέκα πάσχοντες από σχιζοφρένεια αυτοκτονεί. Επίσης, οι ασθενείς με σχιζοφρένεια συχνά κάνουν κατάχρηση αλκοόλ ή και άλλων ουσιών και μπορεί να αντιδράσουν πολύ άσχημα υπό την επήρειά τους, ενώ παράλληλα μπορεί να επηρεασθεί σημαντικά η αποτελεσματικότητα της λαμβανόμενης θεραπείας. Επιπλέον, η χρήση ορισμένων ουσιών, όπως π.χ. αμφεταμίνες, κοκαΐνη, μαριχουάνα κ.α., μπορεί να επιδεινώσει τα συμπτώματα της νόσου και να οδηγήσει σε υποτροπές.¹⁵ Τέλος, η χρήση τέτοιων ουσιών μειώνει τις πιθανότητες να ακολουθήσουν οι ασθενείς τις οδηγίες του ιατρού τους και να λαμβάνουν την αγωγή τους όπως τους έχει υποδειχθεί («συμμόρφωση» ή «προσκόλληση στην θεραπεία»).¹⁶

1.1.3 Διάγνωση της σχιζοφρένειας

Είναι εξαιρετικά δύσκολο να διαγνώσουμε πολλές ψυχιατρικές διαταραχές και η σχιζοφρένεια δεν αποτελεί εξαίρεση σε αυτόν τον κανόνα. Δεν υπάρχουν δοκιμασίες που να μπορούν με έναν οριστικό τρόπο να διαγνώσουν ότι ένας άνθρωπος πάσχει από σχιζοφρένεια. Επομένως, η διάγνωση εξαρτάται από τον αποκλεισμό άλλων αιτίων που μπορούν να προκαλούν συμπτώματα που μοιάζουν με αυτά της σχιζοφρένειας, όπως είναι : η κατάχρηση ουσιών, η επιληψία, οι όγκοι του εγκεφάλου και η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, και βασίζεται στην λεπτομερειακή ψυχιατρική εκτίμηση.

Χρειάζεται να αποκλείσουμε και άλλες ασθένειες, καθώς κάποιες φορές οι άνθρωποι υποφέρουν από σοβαρά ψυχικά συμπτώματα σχιζοφρενικού τύπου, εξαιτίας κάποιων υποκείμενων παθολογικών προβλημάτων που δεν έχουν διαγνωστεί. Πριν οριστικοποιηθεί η διάγνωση της σχιζοφρένειας, πρέπει να ληφθεί ένα ιατρικό ιστορικό και να γίνει μία φυσική εξέταση καθώς και εργαστηριακοί έλεγχοι, για να αποκλεισθούν άλλα πιθανά αίτια. Καθώς δραστικές ουσίες ή φάρμακα που συχνά χρησιμοποιούνται με λανθασμένο τρόπο μπορεί να προκαλέσουν συμπτώματα που μοιάζουν με σχιζοφρένεια, μπορεί να χρειαστεί να γίνουν έλεγχοι σε δείγματα αίματος και ούρων για τυχόν παρουσία αυτών των ουσιών.

Από τη στιγμή που θα αποκλεισθούν άλλα αίτια, τότε ο γιατρός πρέπει να κάνει μία διάγνωση που να στηρίζεται μόνο στα συμπτώματα που παρατηρούνται στον ασθενή και αναφέρονται από τον ασθενή ή και την οικογένειά του. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα και καθυστερήσεις, καθώς πολλά συμπτώματα μπορεί να μην είναι εμφανή μέχρις ότου η ασθένεια είναι σε σχετικά προχωρημένο στάδιο.

Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι τα διαγνωστικά κριτήρια για τη σχιζοφρένεια απαιτούν την ύπαρξη των συμπτωμάτων της διαταραχής για τουλάχιστον 6 μήνες. Εάν τα συμπτώματα έχουν διαρκέσει για λιγότερο από 6 μήνες, τότε δίδεται η διάγνωση της σχιζοφρενικόμορφης διαταραχής ή της βραχείας ψυχωτικής διαταραχής. Διαγνωστικά κριτήρια για τη διαταραχή αναφέρονται στο DSM IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) της Αμερικάνικης Ψυχιατρικής Εταιρείας, αλλά και στο ICD (International Classification of Diseases) της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας. Σύμφωνα λοιπόν με το DSM-IV-TR(text revision)¹⁷ τα διαγνωστικά κριτήρια για τη σχιζοφρένεια είναι τα εξής :

A. Χαρακτηριστικά συμπτώματα: Δύο ή περισσότερα από τα ακόλουθα, το καθένα από τα οποία είναι παρόν για σημαντικό τμήμα του χρόνου κατά τη διάρκεια μιας περιόδου ενός μηνός (ή και λιγότερο αν αντιμετωπιστεί επιτυχώς):

1. παραληρητικές ιδέες
2. ψευδαισθήσεις
3. αποδιοργανωμένος λόγος (π.χ. συχνός εκτροχιασμός ή ασυναρτησία)
4. έντονα αποδιοργανωμένη ή κατατονική συμπεριφορά
5. αρνητικά συμπτώματα π.χ. συναισθηματική επιπέδωση, αλογία ή αβουλησία

Σημείωση: Απαιτείται μόνο ένα σύμπτωμα του κριτηρίου A αν οι παραληρητικές ιδέες είναι αλλόκοτες ή οι ψευδαισθήσεις αποτελούνται από μία φωνή που σχολιάζει αδιάκοπα τη συμπεριφορά ή τις σκέψεις του ατόμου, ή από δύο ή περισσότερες φωνές που συνδιαλέγονται μεταξύ τους.

B. Κοινωνική /επαγγελματική δυσλειτουργία: Για ένα σημαντικό τμήμα του χρόνου από τη στιγμή της έναρξης της διαταραχής, μία ή περισσότερες μείζονες περιοχές της λειτουργικότητας, όπως η εργασία, οι διαπροσωπικές σχέσεις ή η φροντίδα του εαυτού είναι καταφανώς κάτω από το επίπεδο που είχε επιτευχθεί πριν την έναρξη (ή όταν η έναρξη τοποθετείται στην παιδική ηλικία ή την εφηβεία, αποτυχία να επιτευχθεί το αναμενόμενο επίπεδο διαπροσωπικών, σχολικών ή επαγγελματικών επιτευγμάτων).

Γ. Διάρκεια: Συνεχή σημεία της διαταραχής επιμένουν για τουλάχιστον 6 μήνες. Αυτή η περίοδος των 6 μηνών πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα μήνα συμπτωμάτων (ή λιγότερο αν αντιμετωπιστούν επιτυχώς), τα οποία πληρούν το κριτήριο A (δηλαδή ενεργός φάση των συμπτωμάτων) και μπορεί να περιλαμβάνει περιόδους με πρόδρομα ή υπολειμματικά συμπτώματα. Κατά τη διάρκεια αυτών των περιόδων, της πρόδρομης ή της υπολειμματικής, τα σημεία της διαταραχής μπορούν να εκδηλώνονται μόνο με αρνητικά συμπτώματα ή είναι παρόντα σε πιο εξασθενημένη μορφή δύο ή περισσότερα συμπτώματα που συγκαταλέγονται στο κριτήριο A (π.χ. παράδοξες πεποιθήσεις, ασυνήθη αντιληπτικά βιώματα).

Δ. Αποκλεισμός της σχιζοσυναισθηματικής διαταραχής και της διαταραχής διάθεσης : Η σχιζοσυναισθηματική διαταραχή και η διαταραχή της διάθεσης με ψυχωτικά στοιχεία έχουν αποκλεισθεί επειδή είτε 1) δεν υπήρχε παρουσία μείζονος καταθλιπτικού, μανιακού ή μικτού επεισοδίου ταυτόχρονα με την ενεργό φάση των συμπτωμάτων, ή 2) αν υπήρχε παρουσία επεισοδίων της διάθεσης κατά τη διάρκεια

της ενεργού φάσης των συμπτωμάτων, η συνολική τους διάρκεια ήταν βραχεία σε σχέση με τη διάρκεια της ενεργού και της υπολειμματικής περιόδου.

Ε. Αποκλεισμός ουσιών /γενικής σωματικής κατάστασης: Η διαταραχή δεν οφείλεται στις άμεσες φυσιολογικές δράσεις μιας ουσίας (π.χ. ουσία κατάχρησης, φάρμακα) ή γενικής σωματικής κατάστασης.

ΣΤ. Σχέση με διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή: Αν υπάρχει ιστορικό αυτιστικής διαταραχής ή άλλης διάχυτης αναπτυξιακής διαταραχής, η επιπρόσθετη διάγνωση της σχιζοφρένειας τίθεται μόνον αν υπάρχουν επίσης προεξάρχουσες παραληρητικές ιδέες ή ψευδαισθήσεις για τουλάχιστον ένα μήνα (ή λιγότερο αν αντιμετωπιστούν επιτυχώς).

Ταξινόμηση της μακροχρόνιας πορείας (εφαρμόζεται μόνον αφού έχει μεσολαβήσει τουλάχιστον ένας χρόνος από την πρώτη εμφάνιση των συμπτωμάτων της ενεργού φάσης):

Επεισοδιακή με υπολειμματικά συμπτώματα μεταξύ των επεισοδίων (τα επεισόδια ορίζονται από την επανεμφάνιση προεξάρχοντων ψυχωτικών συμπτωμάτων) επίσης καθορίζεται αν προεξάρχουν τα αρνητικά συμπτώματα

Επεισοδιακή χωρίς υπολειμματικά συμπτώματα μεταξύ των επεισοδίων

Συνεχής (προεξάρχοντα ψυχωτικά συμπτώματα είναι παρόντα καθ' όλη την περίοδο παρακολούθησης) επίσης γίνεται προσδιορισμός από τον ιατρό αν προεξάρχουν τα αρνητικά συμπτώματα

Μοναδικό επεισόδιο σε μερική ύφεση, επίσης καθορίζεται αν προεξάρχουν τα αρνητικά συμπτώματα

Μοναδικό επεισόδιο σε πλήρη ύφεση

Άλλος ή απροσδιόριστος τύπος

1.1.4 Συμπτωματολογία της σχιζοφρένειας

Οι άνθρωποι που πάσχουν από σχιζοφρένεια δεν είναι όπως ήδη αναφέραμε «διχασμένες προσωπικότητες». Ωστόσο, η αντίληψη της πραγματικότητας παρουσιάζεται σε άλλοτε άλλο βαθμό «αλλοιωμένη» από εμπειρίες όπως φωνές που ακούν μόνο οι ίδιοι (ακουστικές ψευδαισθήσεις), πεποιθήσεις ότι οι άλλοι άνθρωποι θέλουν το κακό τους, τους καταδιώκουν, συνωμοτούν (παραληρητικές ιδέες δίωξης) ή τους επηρεάζουν ελέγχοντας τις πράξεις ή τη σκέψη τους. Η ζωή σε ένα κόσμο που παραμορφώνεται από ψευδαισθήσεις και παραληρηματικές ιδέες, τείνει να κάνει τους ανθρώπους με σχιζοφρένεια να αισθάνονται φοβισμένοι, αγχωμένοι και σε σύγχυση. Έτσι οι ασθενείς με σχιζοφρένεια συχνά απομονώνονται και φοβούνται τον κόσμο γύρω τους, με αποτέλεσμα, να αποτραβιούνται, να δείχνουν απόμακροι ή να ασχολούνται με πράγματα που μπορεί να μην είναι πραγματικά, να μένουν ξάγρυπνοι, σε πολύ μεγάλη επαγρύπνηση και επιφυλακή ή να παρουσιάζονται απαθείς. Αυτές οι ασυνήθιστες συμπεριφορές κάνουν τους άλλους ανθρώπους να αισθάνονται άβολα και μερικές φορές μπορεί και να τους φοβίζουν.¹⁸

Τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας χωρίζονται σε θετικά, αρνητικά γνωσιακές διαταραχές και συνοδά συμπτώματα^{19,20} :

1.1.4.1 Θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας

Ψευδαισθήσεις:

Οι ψευδαισθήσεις είναι οτιδήποτε συμβαίνει και έχει να κάνει με την ακοή, την όσφρηση, την αφή και την όραση πολλές φορές και τη γεύση –παρόλο που συμβαίνει σπανιότερα- με πράγματα που δεν υπάρχουν και δε συμβαίνουν στην πραγματικότητα και κανείς άλλος εκτός από το άτομο που τα αναφέρει δε μπορεί να τα νιώσει. Οι ακουστικές ψευδαισθήσεις είναι η πιο κοινή μορφή και περιλαμβάνουν φωνές που γίνονται αντιληπτές σαν να προέρχονται από έξω ή από τον εγκέφαλο του ασθενή. Μερικές φορές οι φωνές είναι καθησυχαστικές ή φιλοφρονητικές άλλες φορές όμως είναι απειλητικές, επικριτικές, τρομακτικές και μπορεί να τον διατάζουν να κάνει βλαβερά πράγματα.

Παραληρητικές ιδέες:

Ιδέες που έχουν να κάνουν με δίωξη, ζήλια, μεγαλείο, θρησκευτικό παραλήρημα και εμμονές . Λαθεμένα πιστεύω με ιδιοσυγκρασιακό χαρακτήρα που επιμένουν χωρίς

λόγο, όπως για παράδειγμα να έχει την αίσθηση ότι κάποιος τον παρακολουθεί ή τον καταδιώκει όταν δεν υπάρχει καμία ένδειξη ότι αυτό πράγματι συμβαίνει. Μία κοινή παραληρητική ιδέα είναι ότι άλλοι ελέγχουν τις σκέψεις του.

Αποδιοργανωμένη σκέψη:

Στην περίπτωση αυτή είναι δύσκολο να βάλει τις σκέψεις του την μία δίπλα στην άλλη και να τις εκφράσει. Συνήθως πετάγεται από το ένα θέμα στο άλλο χωρίς να τα ολοκληρώνει και είναι δύσκολο για τους άλλους να τον καταλάβουν και να γίνει κατανοητός. Τα άτομα με αποδιοργανωμένη σκέψη έχουν δυσκολία να συγκεντρωθούν σε ότι οι άλλοι τους λένε.

Αποδιοργανωμένη συμπεριφορά:

Διέγερση και συναίσθημα ακατάλληλο προς τις περιστάσεις, άλλοτε πλήρης αναστολή και κατάσταση εμβροντησίας.

1.1.4.2 Αρνητικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας

Μείωση της βούλησης και της πρωτοβουλίας:

Αργές κινήσεις, έλλειψη βούλησης και αποφασιστικότητας, αεργία, τεμπελιά, μειωμένο ενδιαφέρον για δραστηριότητες, οικογενειακές, κοινωνικές και ανάλογες σχέσεις. Αδυναμία να τηρήσει και να είναι συνεπής στον εργασιακό χώρο, σε κοινωνικές συναντήσεις και σημαντικά γεγονότα. Έλλειψη δραστηριότητας και παραμέληση προσωπικής καθαριότητας και εμφάνισης.

Επιπέδωση-αμβλύτητα συναισθήματος:

Επίπεδα συναισθήματα, απάθεια, πρόσωπο χωρίς έκφραση και χειρονομίες, απώλεια/ έλλειψη βλεμματικής επαφής, αχρωμία στη φωνή, απώλεια τόνου στη φωνή, έλλειψη στην διακίνηση συναισθήματος προς τους άλλους και καμία ανταπόκριση σε αυτά που δίνουν οι άλλοι.

Κοινωνική απόσυρση – απομόνωση:

Πολλοί άνθρωποι με διάγνωση σχιζοφρένειας είναι ιδιαίτερα αποσυρμένοι κοινωνικά, έχουν λίγους φίλους, δεν έχουν πολλές κοινωνικές δεξιότητες και δείχνουν ελάχιστο ενδιαφέρον να είναι με άλλους ανθρώπους.

Χαμηλή κινητοποίηση / έλλειψη κινήτρων:

Το άτομο δε βρίσκει ενδιαφέρον στις ασχολίες και σπαταλά περισσότερο χρόνο σε άσκοπες δραστηριότητες. Αυτά τα αρνητικά συμπτώματα συνδυάζονται με μία γενική έλλειψη κινήτρων, σκοπών και στόχων.

Ανηδονία:

Ανικανότητα άντλησης χαράς και ευχαρίστησης από μικρές καθημερινές απολαύσεις.

Διαταραχές ομιλίας:

Μειωμένο και ελλιπές λεξιλόγιο, μεγάλη καθυστέρηση και κενά σε συζητήσεις όσον αφορά την απάντηση. Ο λόγος είναι ασαφής, φτωχός και δεν μεταφέρει πληροφορίες. Οι απαντήσεις στις ερωτήσεις είναι λακωνικές, με μία δύο λέξεις, δίνοντας την εντύπωση εσωτερικής κενότητας.

Τα αρνητικά συμπτώματα εκτιμώνται περισσότερο δύσκολα από τα θετικά. Το γενικότερο ενδιαφέρον για τη ζωή, η ενέργεια, τα συναισθήματα και γενικά η διάθεση και το ξεσέκωμα για δραστηριότητες απουσιάζει. Είναι δύσκολο για τους ανθρώπους με αρνητικά συμπτώματα να ενθουσιαστούν και να βρουν ενδιαφέρον σε κάτι. Η έλλειψη συγκέντρωσης είναι ένα ακόμη χαρακτηριστικό. Η διαδικασία του να καταλάβει κάποιος τα αρνητικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας είναι περίπλοκη, γιατί δεν πιστεύουν ότι είναι συμπτώματα, αλλά ότι τα άτομα είναι φυγόπονα. Μπορεί λοιπόν τα αρνητικά συμπτώματα να είναι λιγότερο δραματικά από τα θετικά, αλλά προκαλούν και πάλι προβλήματα.²¹

1.1.4.3 Γνωσιακές διαταραχές ασθενών με σχιζοφρένεια

Η γνωσιακή δυσλειτουργία στη σχιζοφρένεια οδηγεί σε προβλήματα στη μάθηση, στη μνήμη, στην προσοχή και συγκέντρωση σε ένα θέμα, αδυναμία στην επίλυση προβλημάτων. Τα περισσότερα άτομα με σχιζοφρένεια παρουσιάζουν πτώση της γνωσιακής τους λειτουργίας με την έναρξη της ασθένειας, η οποία παραμένει σχετικά σταθερή καθόλη τη διάρκειά της. Πολλά από τα συμπτώματα της γνωσιακής

λειτουργίας εμπλέκονται με τα θετικά και τα αρνητικά συμπτώματα, όπως η αποδιοργανωμένη σκέψη ή το ελλιπές λεξιλόγιο αντίστοιχα.²²

1.1.4.4 Συνοδά συμπτώματα ασθενών με σχιζοφρένεια

Άγχος και κατάθλιψη, μπορεί να είναι αντίδραση στο στρες της βίωσης ψυχωτικών συμπτωμάτων για ένα άτομο με σχιζοφρένεια, αλλά και βίωσης της οδυνηρής έκβασης και των συνεπειών της διαταραχής.

Συμπτώματα άγχους:

Αναφέρονται στην αίσθηση φόβου, νευρικότητας και κινδύνου που δεν είναι συμβατά με την κατάσταση.

Συμπτώματα κατάθλιψης:

Το αίσθημα της κατάθλιψης είναι πολύ επώδυνο και μπορεί να οδηγήσει σε ιδέες ή απόπειρες αυτοκτονίας.

1.1.5 Τύποι της σχιζοφρένειας

Έχουν διακριθεί πέντε υποκατηγορίες της σχιζοφρένειας με σκοπό να διευκολυνθεί η έρευνα, η θεραπεία και η επικοινωνία μεταξύ ιατρών και ασθενών.²³

1.1.5.1 Σχιζοφρένεια παρανοϊκού τύπου

Η σχιζοφρένεια παρανοϊκού τύπου είναι η πιο συχνή διάγνωση της σχιζοφρένειας (τουλάχιστον στις αναπτυγμένες περιοχές του πλανήτη). Χαρακτηρίζεται από την παρουσία έντονων παραληρητικών ιδεών δίωξης και μεγαλομανίας. Στον τύπο αυτό πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια :

- έντονη ενασχόληση με μία ή περισσότερες παραληρητικές ιδέες ή συχνές ακουστικές ψευδαισθήσεις
- δεν προεξέχει κανένα από τα ακόλουθα: αποδιοργανωμένος λόγος, αποδιοργανωμένη ή κατατονική συμπεριφορά ή επίπεδο ή απρόσφορο συναίσθημα

Οι παρανοϊκοί σχιζοφρενικοί μπορεί να λειτουργούν ικανοποιητικά σε κοινωνικές και επαγγελματικές καταστάσεις, που δεν διεγείρουν τους παρανοϊκούς τους φόβους. Έτσι μπορεί να είναι παντρεμένοι, να έχουν παιδιά και να εργάζονται. Η έναρξη αυτού του τύπου συμβαίνει συνήθως αργότερα στη ζωή απ' ό,τι των άλλων τύπων και τα χαρακτηριστικά του γίνονται πιο σταθερά με το πέρασμα του χρόνου.

Οι παραληρητικές ιδέες είναι τυπικά δίωξης ή μεγαλείου, αν και παραληρητικές ιδέες με άλλα θέματα, π.χ. συζυγική πιστότητα, θρησκεία μπορεί να εμφανισθούν. Οι παραληρητικές ιδέες μπορεί να είναι πολλαπλές, αλλά συνήθως οργανώνονται γύρω από ένα συγκεκριμένο θέμα. Οι παραληρητικές ιδέες δίωξης μπορεί να προδιαθέσουν το άτομο για αυτοκτονία και ο συνδυασμός παραληρητικών ιδεών δίωξης και μεγαλείου μαζί με θυμό μπορεί να προδιαθέσουν για βία. Η έναρξη αυτής της μορφής είναι πιο όψιμη από τις άλλες και η πρόγνωση της είναι ευνοϊκότερη.

1.1.5.2 Σχιζοφρένεια κατατονικού τύπου

Η σχιζοφρένεια κατατονικού τύπου²⁴ χαρακτηρίζεται από κατατονικά συμπτώματα, και οι ασθενείς συνήθως διέρχονται αιφνίδια ανάμεσα στην κατατονική ακινησία και στην έντονη διέγερση και κινητικότητα. Στην κλινική εικόνα του τύπου αυτού κυριαρχούν δύο τουλάχιστον από τα παρακάτω:

- κινητική ακινησία όπως γίνεται φανερό με καταληψία (συμπεριλαμβανομένης και της κηρώδους ευκαμψίας) ή με εμβροντησία (stupor). Καταληψία είναι η άκαμπτη διατήρηση μιας θέσης του σώματος για μεγάλο χρονικό διάστημα. Κηρώδης ευκαμψία είναι η εντύπωση που δίνεται κατά τις κινήσεις των μελών του σώματος από τον εξεταστή, ότι αυτά μοιάζουν σαν να είναι από κερί, αφού είναι εύπλαστα.
- υπερβολική κινητική δραστηριότητα (που είναι εμφανώς άσκοπη και δεν επηρεάζεται από εξωτερικά ερεθίσματα).
- ακραίος αρνητισμός (προβολή αντίστασης που προφανώς δεν έχει κανένα κίνητρο σε κάθε εντολή ή διατήρηση δύσκαμπτης στάσης σε κάθε προσπάθεια μετακίνησης) ή αλαλία.
- ιδιορρυθμίες των εκούσιων κινήσεων όπως γίνονται φανερές από στάσεις του σώματος (εκούσια λαμβανόμενες απρόσφορες ή αλλόκοτες στάσεις), στερεότυπες κινήσεις, ή έκδηλους μορφασμούς.
- ηχολαλία ή ηχοπραξία. Ηχολαλία είναι η επανάληψη σαν ηχώ (ή σαν ομιλία παπαγάλου) από τον ασθενή αυτών που λέει κάποιο άλλο άτομο. Ηχοπραξία είναι η επαναληπτική μίμηση από τον ασθενή των κινήσεων ενός άλλου ατόμου

Κατά τη διάρκεια της κατατονικής εμβροντησίας ή της κατατονικής διέγερσης το άτομο χρειάζεται προσεκτική παρακολούθηση για να μη βλάψει τον εαυτό του ή τους άλλους και μπορεί να χρειασθεί ιατρική φροντίδα λόγω μη λήψης τροφής, εξάντλησης, και κινδύνου αυτοτραυματισμού κτλ. Η μορφή αυτή της σχιζοφρένειας είναι σπάνια σήμερα.

1.1.5.3 Σχιζοφρένεια αποδιοργανωμένου τύπου

Η σχιζοφρένεια αποδιοργανωμένου τύπου (ηβηφρένεια) χαρακτηρίζεται από αποδιοργανωμένο λόγο, χωρίς εμφανή συνοχή ή λογική, νεολογισμούς και ακατάλληλο και ξαφνικά εναλλασσόμενο συναίσθημα. Στον τύπο αυτό της σχιζοφρένειας πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια:

- Προεξάρχουν όλα τα παρακάτω:
 - ο Αποδιοργανωμένος λόγος
 - ο Αποδιοργανωμένη συμπεριφορά
 - ο Επίπεδο ή απρόσφορο συναίσθημα

- Δεν πληρούνται τα κριτήρια Κατατονικού Τύπου

Είναι ταυτόσημος με την παλαιότερα αναφερόμενη ως ήβηφρενική μορφή. Την αποδιοργανωμένη συμπεριφορά και τον αποδιοργανωμένο λόγο μπορεί να συνοδεύσουν ανόητη συμπεριφορά και αναίτιο γέλιο. Υπάρχουν συχνές παραληρητικές ιδέες και ψευδαισθήσεις, οι οποίες όμως δεν είναι οργανωμένες. Συνήθως υπάρχει προνοσηρή διαταραχή της προσωπικότητας, πρώιμη και ύπουλη έναρξη και χρόνια πορεία χωρίς σημαντική ύφεση.

1.1.5.4 Αδιαφοροποίητος τύπος σχιζοφρένειας

Ο αδιαφοροποίητος τύπος σχιζοφρένειας είναι μία μεικτή κατηγορία. Τύπος σχιζοφρένειας στον οποίο υπάρχουν συμπτώματα που πληρούν το κριτήριο Α διάγνωσης της σχιζοφρένειας (χαρακτηριστικά συμπτώματα κλπ), αλλά δεν πληρούνται τα κριτήρια του παρανοϊκού, αποδιοργανωμένου ή κατατονικού τύπου.

1.1.5.5 Σχιζοφρένεια υπολειμματικού τύπου

Η σχιζοφρένεια υπολειμματικού τύπου αναφέρεται σε άτομα που έχουν περάσει την ενεργό φάση. Τα διαγνωστικά κριτήρια του τύπου αυτού είναι:

- απουσιάζουν παραληρητικές ιδέες, ψευδαισθήσεις, αποδιοργανωμένος λόγος και έντονα αποδιοργανωμένη ή κατατονική συμπεριφορά.
- υπάρχουν σημεία που δείχνουν ότι η διαταραχή συνεχίζεται, όπως φαίνεται από την παρουσία αρνητικών συμπτωμάτων ή δύο ή περισσότερων συμπτωμάτων από αυτά που αναφέρονται στο κριτήριο Α διάγνωσης της σχιζοφρένειας (χαρακτηριστικά συμπτώματα κλπ), που είναι παρόντα σε εξασθενημένη μορφή (π.χ. παράξενες πεποιθήσεις, ασυνήθιστες αντιληπτικές εμπειρίες).

Όπως φαίνεται, λοιπόν, από τα παραπάνω κριτήρια, ο τύπος αυτός αναφέρεται στις περιπτώσεις που έχει υπάρξει τουλάχιστον ένα επεισόδιο σχιζοφρένειας, αλλά στην τωρινή κλινική εικόνα δεν υπάρχουν έντονα ψυχωτικά συμπτώματα, ενώ υπάρχουν αρνητικά ή εξασθενημένα θετικά συμπτώματα.

Η χρησιμότητα αυτών των υποκατηγοριών της σχιζοφρένειας έχει αμφισβητηθεί γιατί

1. η διαφοροδιάγνωση είναι πολύ δύσκολη και συνεπώς υπάρχει χαμηλή αξιοπιστία στη διάγνωση και

2. δε δείχνει να έχει κάποια προβλεπτική χρησιμότητα.

Στην προσπάθεια να μειωθεί η διαγνωστική ετερογένεια, αλλά και να σκιαγραφηθεί η έκφραση της διαταραχής οι ερευνητές ταυτοποίησαν δύο διακριτούς τύπους σχιζοφρένειας.²⁵

Τύπος I: χαρακτηρίζεται από θετικά συμπτώματα (ψευδαισθήσεις, παραληρητικές ιδέες), φυσιολογικά αξονοτομογραφικά ευρήματα, καλή ανταπόκριση στις αντιψυχωτικές ουσίες .

Τύπος II: φαίνεται να μοιάζει με τους ασθενείς με πρώιμη άνοια του Kraepelin και εμφανίζει μία υπεροχή των αρνητικών συμπτωμάτων (ανηδονία, κοινωνική έκπτωση, περιορισμός διαπροσωπικών σχέσεων, αργία), αξονοτομογραφικά ευρήματα (φλοιώδης ατροφία και κοιλιακή διάταση) και νευροψυχολογικές διαταραχές. Αυτοί οι ασθενείς δεν ανταποκρίνονται καλά στην αντιψυχωτική αγωγή, αλλά φαίνεται ότι βρίσκονται σε μία «ελλειμματική κατάσταση». Η πορεία της νόσου μπορεί να χαρακτηρίζεται από υφέσεις ή να ακολουθεί μία χρόνια πορεία.

1.1.6 Πορεία της σχιζοφρένειας

Η σχιζοφρένεια συχνά ακολουθεί μία πορεία με 3 φάσεις :

1.1.6.1 Η πρόδρομη φάση

Η εμφάνιση της σχιζοφρένειας συνήθως γίνεται στα μετεφηβικά χρόνια και συχνά η λειτουργικότητα του ατόμου μειώνεται σταδιακά.

1.1.6.2 Η ενεργός φάση

Σε αυτή τη φάση το άτομο παρουσιάζει τα βασικά ψυχωτικά συμπτώματα. Αυτή η φάση μπορεί να κρατήσει κάποιες εβδομάδες ή και απροσδιόριστο χρόνο.

1.1.6.3 Η υπολειμματική φάση

Στις περισσότερες περιπτώσεις η ανάρρωση είναι σταδιακή. Σε κάποιες περιπτώσεις η υπολειμματική φάση καταλήγει στην επιστροφή στη φυσιολογική λειτουργία, «πλήρης ύφεση», αν και αυτή δεν είναι η συνήθης πορεία. Διαχρονικές έρευνες δείχνουν ότι περίπου το 10% των ατόμων παραμένουν σε ενεργό σχιζοφρένεια , το 25% επιστρέφουν σε πλήρη λειτουργικότητα, και το 50-65% ταλαντεύονται ανάμεσα σε υπολειμματικές και σε ενεργές φάσεις, συχνά με ολοένα και επιδεινούμενη λειτουργικότητα στις υπολειμματικές φάσεις. Ψυχοπιεστικά γεγονότα ζωής λειτουργούν ως εκλυτικοί παράγοντες.

1.1.7 Η θεραπεία στην σχιζοφρένεια

Οι σύγχρονες απόψεις για την θεραπεία των ανθρώπων που πάσχουν από σχιζοφρένεια συμφωνούν στην ανάγκη συνδυασμού της φαρμακοθεραπείας με ψυχοθεραπευτικές τεχνικές, καθώς και με την κατάλληλη εκπαίδευση σε κοινωνικές δεξιότητες.²⁶ Αυτό που πρέπει πάνω απ' όλα να τονιστεί είναι ότι κάθε ασθενής με σχιζοφρένεια χρειάζεται εξατομικευμένη θεραπευτική φροντίδα. Αυτό το θεραπευτικό σχέδιο θα πρέπει να εξηγηθεί λεπτομερειακά τόσο στον ασθενή, όσο και στους συγγενείς του. Είναι πολύ σημαντικό, τόσο για τον άνθρωπο που πάσχει όσο και για την οικογένειά του, να καταλάβουν τι περιλαμβάνει η θεραπεία και τι αναμένεται από αυτή.

Η φαρμακοθεραπεία αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για μια επιτυχή αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας. Τα βασικά φάρμακα στην αντιμετώπιση της νόσου είναι τα αντιψυχωτικά. Τα νεώτερα αντιψυχωτικά (π.χ. ρισπεριδόνη, ολανζαπίνη, κουετιαπίνη κλπ) χαρακτηρίζονται από πολύ λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (εξωπυραμιδικού τύπου-ήπιες) σε σχέση με τα παλαιότερα. Έτσι εξασφαλίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό η συμμόρφωση του ασθενούς με το θεραπευτικό σχήμα, η καλύτερη λειτουργικότητά του και πάνω απ' όλα η καλύτερη ποιότητα ζωής του ίδιου και της οικογένειάς του.²⁷

Η ατομική ψυχοθεραπεία περιλαμβάνει τακτικές προγραμματισμένες συνεδρίες συνομιλίας ανάμεσα στον ασθενή και έναν ψυχίατρο ή κάποιον άλλο ειδικό της ψυχικής υγείας. Αυτές οι συνεδρίες μπορεί να εστιάζουν σε τρέχοντα ή προηγούμενα προβλήματα, εμπειρίες, σκέψεις, συναισθήματα ή σχέσεις. Υπάρχουν μελέτες που υποδεικνύουν ότι η υποστηρικτική, προσανατολισμένη προς την πραγματικότητα, ατομική ψυχοθεραπεία και οι γνωσιακές-συμπεριφορικές προσεγγίσεις, που διδάσκουν δεξιότητες αντιμετώπισης και επίλυσης προβλημάτων, μπορούν να είναι ευεργετικές για τους ασθενείς με σχιζοφρένεια. Η ατομική ψυχοθεραπεία επικεντρώνεται στην αποκατάσταση της φυσιολογικής λειτουργίας διεργασιών, όπως είναι η προσοχή και η μνήμη, που είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν ελλείμματα σε πολλούς ασθενείς με σχιζοφρένεια, αλλά και ότι σχετίζονται με την φτώχη κοινωνική τους προσαρμογή. Επίσης οι ασθενείς ενθαρρύνονται να ελέγξουν πόσο ρεαλιστικές είναι οι παραληρητικές τους πεποιθήσεις, και τους δίδεται βοήθεια να αντιμετωπίζουν εξωγενείς ψυχοπιεστικούς παράγοντες.

Με τις ομαδικές θεραπείες καταπολεμάται η κοινωνική απομόνωση, αποκτώνται διαπροσωπικοί δεσμοί και ουσιαστική υποστήριξη, καθώς και εκμάθηση δεξιοτήτων για την αντιμετώπιση καθημερινών καταστάσεων.²⁸

Οι οικογενειακές θεραπείες αποσκοπούν στην πραγματική επικοινωνία μεταξύ των μελών της οικογένειας, προκειμένου ο θεραπευτής να καταλάβει τις απόψεις και τις ανάγκες τους και να προσφέρει την απαραίτητη υποστήριξη στην αντιμετώπιση των επιπτώσεων της νόσου. Επίσης βοηθά τα μέλη μιας οικογένειας να μάθουν τρόπους μείωσης των πιθανοτήτων για μελλοντικές υποτροπές, να αναγνωρίσουν τα συμπτώματα της νόσου καθώς και τα διαθέσιμα μέτρα αντιμετώπισης. Οι οικογένειες που ένα μέλος τους έχει διάγνωση σχιζοφρένειας, συνήθως χαρακτηρίζονται από «υψηλή έκφραση συναισθημάτων» (δηλ. υπάρχει υπερεμπλοκή της οικογένειας, που περιλαμβάνει εχθρικότητα, αδιαφορία, αρνητική κριτική ή και υπερπροστασία προς τον ασθενή), με συνέπεια την υποτροπή της ασθένειας και την επανανοσηλεία των άρρωστων μελών. Οπότε, με την οικογενειακή θεραπεία γίνεται προσπάθεια να μειωθούν τα επίπεδα «εκφρασμένου συναισθήματος» μέσα από γνωστικές και συμπεριφορικές προσεγγίσεις και να βελτιωθεί η επικοινωνία μεταξύ οικογένειας και σχιζοφρενικού μέλους.²⁹

Οι ψυχοκοινωνικές θεραπείες τέλος εστιάζουν στην βελτίωση της κοινωνικής λειτουργικότητας, είτε στο νοσοκομείο, είτε στην κοινότητα, το σπίτι ή την εργασία. Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια εκπαιδεύονται σε νέες κοινωνικές συμπεριφορές που συμβάλλουν στη μείωση των υποτροπών και τους βοηθούν να αποκτήσουν καλύτερη κοινωνική λειτουργικότητα και ποιότητα ζωής.³⁰

1.1.8 Αντιψυχωτικά φάρμακα

Το πρώτο οπλοστάσιο της θεραπευτικής στην ψυχιατρική δεν περιελάμβανε παρά μόνα λίγα φάρμακα, όπως τα βρωμιούχα, τα βαρβιτουρικά, τα οπιοειδή και τη ένυδρο χλωράλη.³¹ Το 1926 αναγνωρίζεται η ακετυλοχολίνη ως νευροδιαβιβαστής, το 1937 ανακαλύπτονται τα αντιισταμινικά, και το 1943 το LSD. Το ινσουλινικό κώμα, η ηλεκτροσπασμοθεραπεία και η λευκοτομή εφαρμόζονται στους αρρώστους.

Σύντομα μετά τον 2ο παγκόσμιο πόλεμο ο Charpentier και οι συνεργάτες του στη Γαλλία συνέθεσαν και έλεγξαν μία σειρά φαινοθειαζινικών αμινών, που βρέθηκε ότι είχαν σημαντικές και μεγάλης διάρκειας αντισταμινικές ιδιότητες. Ένα από τα ισχυρότερα ήταν η προμεθαζίνη. Η θεραπευτική και εμπορική επιτυχία της προμεθαζίνης οδήγησε στη σύνθεση πολλών παρόμοιας δομής φαινοθειαζινών, συμπεριλαμβανομένης και της χλωροπρομαζίνης, η οποία συντέθηκε αρχικά ως αντισταμινικό, αλλά προκαλούσε πολύ έντονη υπνηλία και σύντομα δοκιμάστηκε σε ψυχιατρικούς ασθενείς με μοναδικά θεραπευτικά αποτελέσματα από τους Delay, Deniker και Harl.³² Μέσα σε μία δεκαετία ο A. Carlsson είχε κάνει την υπόθεση ότι η χλωροπρομαζίνη και η βουτυροφαινόνη αλοπεριδόλη μπορεί να έχουν επίδραση στη σχιζοφρένεια αποκλείοντας τους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς στον εγκέφαλο.³³ Οι Creese et al. θα δείξουν με τη χρήση κρυσταλλογραφίας ακτίνων X ότι πράγματι λαμβάνει χώρα αποκλεισμός των υποδοχέων της ντοπαμίνης.³⁴ Η σύγχρονη εποχή λοιπόν της φαρμακοθεραπείας της σχιζοφρένειας ανάγεται στην εισαγωγή της χλωροπρομαζίνης στη θεραπευτική της ψύχωσης.³⁵

Το 1955 ο Pierre Deniker πρότεινε τον όρο νευροληπτικά στη Γαλλική Ιατρική Ακαδημία, διότι παρατήρησε ότι με αυξανόμενες δόσεις χλωροπρομαζίνης εμφανίζονται εκτός από την αντιψυχωσική δράση, ανεπιθύμητες ενέργειες που έμοιαζαν με την κλινική εικόνα της νόσου του Parkinson. Χρησιμοποίησε αυτόν τον όρο για να δείξει ότι η αντιψυχωσική δράση συνδεόταν με κάποια μορφή επηρεασμού του νευρικού συστήματος. Ο όρος αυτός δεν γινόταν δεκτός από το F.D.A στις Η.Π.Α., το οποίο πρότεινε να αντικατασταθεί με τον όρο μείζονα ηρεμιστικά, αφού πίστευαν ότι τα φάρμακα πρέπει να κατηγοριοποιούνται με βάση τις ενδείξεις και όχι τις ανεπιθύμητες ενεργειές τους. Σήμερα ο όρος αντιψυχωτικά φαίνεται να είναι ο πιο δημοφιλής, αλλά και ακριβής όρος για τα παλαιότερα και νεότερα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση των ψυχώσεων.³⁶

Τα αντιψυχωτικά φάρμακα, επομένως, χρησιμοποιούνται κυρίως για τη θεραπεία της σχιζοφρένειας, αλλά είναι αποτελεσματικά και σε άλλες ψυχωτικές καταστάσεις, όπως η μανία και το οξύ παραλήρημα. Τα αντιψυχωτικά φάρμακα δε δρουν αιτιοπαθογενετικά, αλλά συμπτωματικά και δεν εξαλείφουν τις βασικές διαταραχές της σκέψης, συχνά όμως επιτρέπουν στον ψυχωτικό ασθενή να λειτουργεί με ικανοποιητικό τρόπο στο περιβάλλον του. Τα αντιψυχωτικά φάρμακα δεν αποτελούν ομοιογενές σύνολο, αλλά περιλαμβάνουν διάφορες χημικές ομάδες φαρμάκων, οι οποίες ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: τα τυπικά και τα άτυπα αντιψυχωτικά (Πίνακας 1). Παρ' ό,τι ανήκουν σε διαφορετικές χημικές ομάδες, όλα έχουν κοινό μηχανισμό δράσης: Τον αποκλεισμό των υποδοχέων της ντοπαμίνης (DA) στο ΚΝΣ.³⁷

Τα τυπικά αντιψυχωτικά οφείλουν τη θεραπευτική τους δράση και τις κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειές τους στη δυνατότητά τους να αποκλείουν κυρίως τους D2 υποδοχείς της ντοπαμίνης. Όλες οι ομάδες των τυπικών αντιψυχωσικών εμφανίζουν μεγαλύτερη χημική συγγένεια για τους D2, παρά για τους D1 υποδοχείς της ντοπαμίνης και ασκούν διαφόρου βαθμού εκλεκτική αντιντοπαμινεργική δράση, η οποία ευθύνεται για τις θεραπευτικές και τις ανεπιθύμητες ενέργειες τους, στα εξής ντοπαμινεργικά συστήματα : Τη **μελανορραβδωτή οδό** (nigrostriatal) (κινητικές διαταραχές), την **μεσομεταιχμιακή οδό** (mesolimbic) (ανακούφιση από τις ψευδαισθήσεις και τις παραληρητικές ιδέες), τη **μεσοφλοιώδη οδό** (mesocortical) (επιδείνωση αρνητικών συμπτωμάτων), και τη **φυματοχοανική οδό** (tuberohypophyseal pathway) (έκκριση προλακτίνης). Η ανακάλυψη των αντιψυχωτικών φαρμάκων τη δεκαετία του '50 οδήγησε στο να δοθεί έμφαση στα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας (ψευδαισθήσεις, παραληρητικές ιδέες, διαταραχές λόγου και επικοινωνίας, αποδιοργάνωση ομιλίας και συμπεριφοράς, σύγχυση και κατατονική συμπεριφορά), τα οποία αντιμετωπίζονταν πολύ αποτελεσματικά από τα τυπικά αντιψυχωτικά.³⁸

Παρόλ' αυτά, η θεραπεία των παραπάνω συμπτωμάτων δεν οδηγούσε στην πλήρη ανάρρωση των σχιζοφρενών. Στους ασθενείς αυτούς εμφανίζονται και αρκετά άλλα συμπτώματα, μεταξύ των οποίων και τα αρνητικά συμπτώματα, όπως απάθεια, απομάκρυνση, έλλειψη ικανοποίησης (ανηδονία) και αρκετά άλλα. Τα νεότερα, άτυπα αντιψυχωτικά ελαττώνουν τα αρνητικά συμπτώματα σε μεγαλύτερο βαθμό, από ό,τι τα τυπικά αντιψυχωτικά.³⁹

Τα άτυπα αντιψυχωτικά⁴⁰ εμφανίζουν πέραν της χημικής συγγένειας με τους D2 υποδοχείς συγγένεια για τους D1 και D4 υποδοχείς, ενώ παράλληλα, δεσμεύουν σε σημαντικό βαθμό τους υποδοχείς 5-HT₂ της σεροτονίνης (5-HT, 5-υδροξυτρυπταμίνης). Τα άτυπα αντιψυχωτικά αναστέλλουν, ταυτόχρονα, υποδοχείς διαφόρων νευρομεταβιβαστών, γεγονός που περιορίζει σημαντικά την εμφάνιση των ανεπιθύμητων ενεργειών τους.⁴¹ Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη συχνότητα εμφάνισης εξωπυραμιδικών συμπτωμάτων και όψιμης δυσκινησίας, σε ασθενείς που λαμβάνουν άτυπα αντιψυχωτικά. Παράλληλα, ορισμένα άτυπα αντιψυχωτικά δεν αυξάνουν τα επίπεδα προλακτίνης, σε αντίθεση με τα τυπικά.⁴² Η κλοζαπίνη ήταν το πρωτότυπο άτυπο αντιψυχωσικό που έπεσε σε δυσμένεια στα μέσα της δεκαετίας του 1970 για να επανέλθει 10 χρόνια αργότερα. Το 1975 δημοσιεύεται στο Lancet μία εργασία με 18 περιπτώσεις ακοκκιοκυτταραιμίας στη Φιλανδία, από τις οποίες οι 8 ήταν θανατηφόρες.⁴³ Αυτό είχε ως συνέπεια την απόσυρση του φαρμάκου. Μετά την εισαγωγή της κλοζαπίνης αναπτύχθηκε μία σειρά άτυπων αντιψυχωτικών φαρμάκων. Η ρισπεριδόνη, η ολανζαπίνη, η κουετιαπίνη και η ζιπραζιδόνη εγκρίθηκαν από το F.D.A. το 1993, το 1996, το 1998 και το 2000 αντίστοιχα. Ο όρος «άτυπα αντιψυχωτικά» χρησιμοποιήθηκε αρχικά αποκλειστικά για την κλοζαπίνη με σκοπό την εστίαση της προσοχής στο ότι δεν ήταν ένα ακόμη από τα πολλά φάρμακα που αναπτύχθηκαν για τη σχιζοφρένεια, αλλά μία ξεχωριστή κατηγορία, το ίδιο αποτελεσματική όσο και τα άλλα φάρμακα, αλλά με πολύ μικρότερη τάση πρόκλησης οξέων και χρόνιων εξωπυραμιδικού τύπου ανεπιθύμητων ενεργειών. Η ολοένα και μεγαλύτερη ανάγκη ανάπτυξης νέων θεραπευτικών παραγόντων, που να έχουν γρήγορα και ικανά αποτελέσματα και ευρεία δράση με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες, έδωσε το έναυσμα για την έρευνα μιας νέας γενιάς «άτυπων αντιψυχωτικών» με ελάχιστες παρενέργειες από το εξωπυραμιδικό σύστημα.⁴⁴

Πίνακας 1		
Ταξινόμηση αντιψυχωσικών φαρμάκων		
Κατηγορία	Χημική ομάδα	Αντιπροσωπευτικά Φάρμακα
ΤΥΠΙΚΑ ΑΝΤΙΨΥΧΩΣΙΚΑ	Φαινοθειαζίνες	Θειοριδαζίνη Τριφθοριοπεραζίνη Φθοριοφαιναζίνη Χρωροπρομαζίνη
	Βουτυροφαινόνες	Αλοπεριδόλη Δροπεριδόλη
	Θειοξανθένια	Ζουκλοπενθιξόλη Φθοριοπενθιξόλη
	Διφαινυλοβουτυλοπιπεριδίνες	Πιμοζίδη
	Ινδολόνες	Μολινδόνη
ΑΤΥΠΑ ΑΝΤΙΨΥΧΩΣΙΚΑ	Διβενζοξαζεπίνες	Λοξαπίνη
	Διβενζοδιαζεπίνες	Κλοξαπίνη
	Βενζισοξαζόλες	Ρισπεριδόνη
	Θειενοβενζοδιαζεπίνες	Ολανζαπίνη
	Διβενζοθειαζεπίνες	Κουετιαπίνη
	Βενζοθειαζολυλοπιπεραζίνες	Ζιπρασιδόνη
	Βενζαμίδια	Σουλπιρίδη

1.1.9 Αίτια της σχιζοφρένειας

Αν και δεν είναι απολύτως γνωστή η αιτιοπαθογένεια της νόσου, πιστεύεται ότι η σχιζοφρένεια αποτελεί το αποτέλεσμα επίδρασης μιας πληθώρας γενετικών, βιοχημικών, περιβαλλοντικών και ψυχολογικών παραγόντων.⁴⁵

Ωστόσο, οι ειδικοί συμφωνούν ότι οι παράγοντες που ευθύνονται για την εκδήλωση της ασθένειας προκαλούν κάποια διαταραχή στη λειτουργία του εγκεφάλου. Έχουμε μπορέσει να αναγνωρίσουμε αρκετούς από αυτούς τους παράγοντες.

1.1.9.1 Νευροδιαβιβαστικές ουσίες

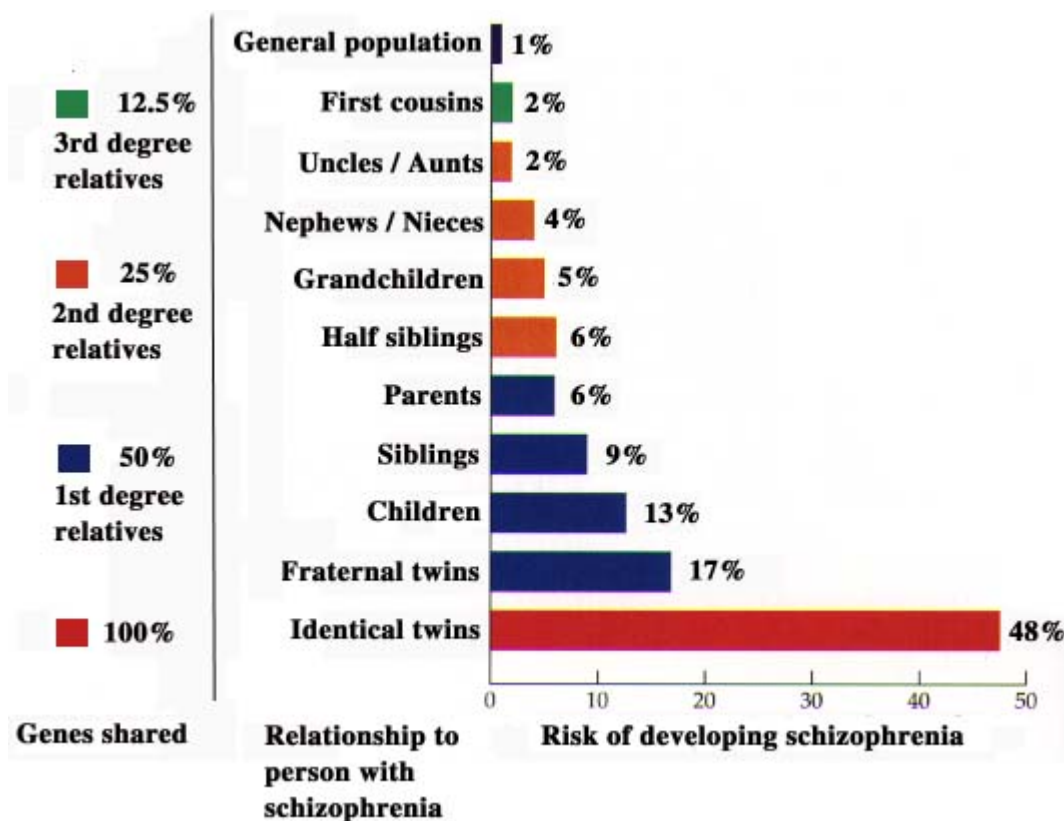
Τα επιστημονικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα συμπτώματα της νόσου προκαλούνται από ανωμαλίες στην μεταβίβαση και επεξεργασία πληροφοριών στον εγκέφαλο. Οι λειτουργίες αυτές προκαλούνται μέσω νευροδιαβιβαστών όπως η ντοπαμίνη, η σεροτονίνη, η νορεπινεφρίνη κλπ., οι οποίες στη σχιζοφρένεια παρουσιάζουν ανώμαλη δραστηριότητα. Οι νευροδιαβιβαστές βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία μεταξύ τους και η δυσλειτουργία του ενός επηρεάζει και τους υπόλοιπους.⁴²

Τα αντιψυχωτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της σχιζοφρένειας τροποποιούν τα αποτελέσματα των παραπάνω νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο. Έτσι ο αποκλεισμός των D₂ υποδοχέων στο μεταχιακό σύστημα, που είναι υπεύθυνο για τα συναισθήματα, είναι ο μηχανισμός δράσης των φαινοθειαζινών, βουτυροφαινονών καθώς και της ρεξερπίνης. Αποκλεισμός των υποδοχέων στον κερκοφόρο πυρήνα και στο κέλυφος του φακοειδούς πυρήνα του εγκεφάλου, περιοχές που ρυθμίζουν την κίνηση, ευθύνονται για τα εξωπυραμιδικά συμπτώματα των παραπάνω νευροληπτικών φαρμάκων.⁴⁶ Επιπλέον η κλοζαπίνη αποκλείει τους D₂ υποδοχείς σε θεραπευτικές δόσεις και προφανώς ανακουφίζει από τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας, με μηχανισμό παρόμοιο με τα τυπικά αντιψυχωτικά. Ταυτόχρονα, όμως, η κλοζαπίνη αποκλείει τον 5-HT₂ υποδοχέα της σεροτονίνης σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό από ότι τους D₂ υποδοχείς. Συγχρόνως αποκλείει τους α-αδρενεργικούς, μουσκαρινικούς, ακετυλοχολινεργικούς και ισταμινικούς H-1 υποδοχείς. Το μοναδικό θεραπευτικό προφίλ της κλοζαπίνης στα θετικά αλλά και τα αρνητικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας οφείλεται στο συνδυασμό του αποκλεισμού τόσο των 5-HT₂ όσο και των D₂ υποδοχέων.⁴⁷

Η χορήγηση φαινοκυκλιδίνης (PCP), LSD ή αμφεταμίνης σε υγιή άτομα προκαλεί ψυχωτική κατάσταση, παρόμοια εκείνης της σχιζοφρένειας.⁴⁸ Η κεταμίνη, παράγωγο της PCP, επίσης προκαλεί σχιζοφρενικά συμπτώματα σε υγιή άτομα. Η ανακάλυψη ότι η φαινοκυκλιδίνη αποκλείει ένα τύπο γλουταμινικού υποδοχέα (NMDA) υποδηλώνει ότι το γλουταμινικό οξύ παίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεια της ασθένειας.⁴⁹ Συγχρόνως υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των νευρώνων του γλουταμινικού οξέος και των νευρώνων του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA). Στα επόμενα χρόνια, είναι πιθανόν να αναπτυχθούν φάρμακα που θα δρουν μέσω των παραπάνω συστημάτων.⁵⁰

1.1.9.2 Γενετικοί παράγοντες

Όσον αφορά τους βιολογικούς παράγοντες, τα ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι σε οικογένειες με άτομα με σχιζοφρένεια υπάρχει μια σημαντική κληρονομική επιβάρυνση. Η πιθανότητα νόσησης αυξάνει όσο πιο επιβαρημένο είναι το οικογενειακό ιστορικό. Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός συγγένειας με τον ασθενή, τόσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των γονιδίων που είναι κοινά με τον ασθενή. Για παράδειγμα, τρίτου βαθμού συγγενείς (π.χ. ξαδέρφια), που έχουν ποσοστό συμφωνίας των γονιδίων τους περίπου 12%, έχουν κίνδυνο 2% να εμφανίσουν την ασθένεια. Δευτέρου βαθμού συγγενείς, που έχουν κοινά περίπου 25% από τα γονιδια τους, διατρέχουν 6% κίνδυνο να αναπτύξουν την ασθένεια. Ένα παιδί με έναν γονέα με σχιζοφρένεια, με τον οποίον μοιράζεται 50% των γονιδίων του, έχει μία πιθανότητα περίπου 6% να εμφανίσει την αρρώστια. Στο γενικό πληθυσμό αυτός ο κίνδυνος είναι περίπου 1%. Και όμως σε ομοζυγώτες διδύμους – που μοιράζονται την ίδια γενετική σύνθεση – υπάρχει πιθανότητα 50% ότι θα επηρεαστούν και οι δύο δίδυμοι.⁵¹ Ενώ για τους διζυγωτικούς διδύμους η συμπτωματικότητα είναι 17% (εικόνα 5). Αυτό δείχνει ότι η σχιζοφρένεια δεν είναι προδιαγραμμένη στη βάση μόνο γενετικών παραγόντων, ακόμη και εάν οι γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο. Για παράδειγμα 89% των σχιζοφρενών δεν έχουν κανένα από τους γονείς σχιζοφρενή, 81% των σχιζοφρενών δεν έχουν ούτε ένα αμφιθαλή αδελφό ή ένα συγγενή σχιζοφρενή. Έτσι το κατάλληλο μοντέλο με το οποίο θα μπορούσαν να εξηγηθούν αυτά τα δεδομένα είναι πολύπλοκο και μπορεί να περιλαμβάνει ένα πολυγονιδιακό μοντέλο ή άλλες περίπλοκες ερμηνείες.⁵²



εικόνα 5.

Η επίπτωση της σχιζοφρένειας είναι μεγαλύτερη στα άτομα που έχουν συγγενή 1^{ου} βαθμού, ο οποίος έχει εκδηλώσει την ασθένεια (Gottesman, I.I.1991)⁵³

1.1.9.3 Περιβαλλοντικοί και ψυχοκοινωνικοί παράγοντες

Άλλες ενδείξεις υποδεικνύουν ότι οι περιβαλλοντικές επιδράσεις μπορεί να επηρεάσουν τον εγκέφαλο στα πρώιμα στάδια της ζωής ή ακόμη και στη διάρκεια της εγκυμοσύνης, όπως κακώσεις κατά τον τοκετό, λοιμώξεις, διαταραχές διατροφής κλπ.⁵⁴ Επίσης ψυχοδυναμικές, κοινωνικές και θεωρίες μάθησης ενοχοποιούν διάφορους στρεσογόνους παράγοντες. Το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο συσχετίζεται με υψηλότερη επίπτωση σχιζοφρένειας. Κοινωνικοοικονομικοί ψυχοπνευματικοί παράγοντες πιθανόν να εκλύουν σχιζοφρενικά επεισόδια σε ευάλωτα άτομα.⁵⁵

Πιστεύεται λοιπόν, ότι σε μία σύνθετη και πολυπαραγοντική διαταραχή όπως η σχιζοφρένεια, οι παραπάνω βιοχημικοί, γενετικοί περιβαλλοντικοί και ψυχοκοινωνικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, και συνδυάζονται για την

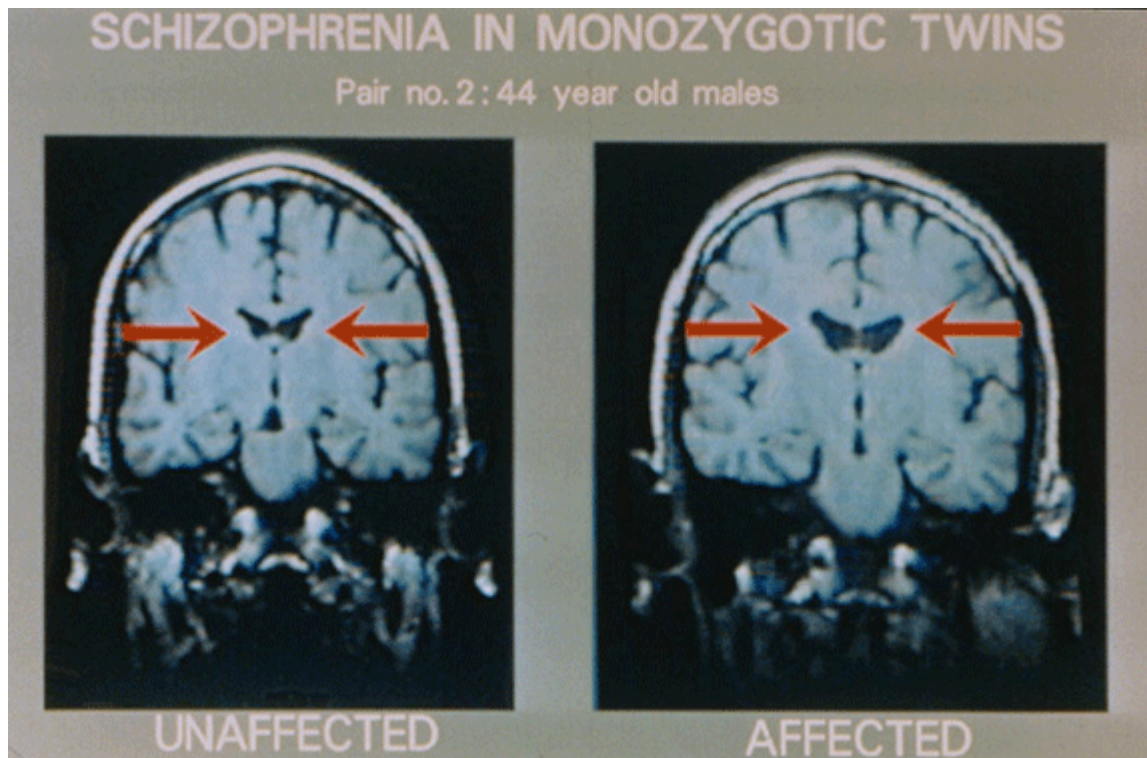
εκδήλωση της νόσου. Αυτή η προσέγγιση είναι ανάλογη με εκείνη του σακχαρώδους διαβήτη ή της αρτηριακής υπέρτασης, στην αιτιοπαθογένεια των οποίων επίσης συμβάλλουν γενετικοί παράγοντες, η φυσιολογία των υποδοχέων καθώς και διάφοροι φυσιολογικοί, οικογενειακοί, ψυχοκοινωνικοί και πλείστοι άλλοι διαφορετικοί παράγοντες. Με αυτή την έννοια οι προδιαθεσικοί παράγοντες συνδέονται με τους αιτιολογικούς παράγοντες, οι εκλυτικοί παράγοντες συνδέονται με την παθοφυσιολογία και οι παράγοντες που συντηρούν τη σχιζοφρένεια συνδέονται με την ποικίλη της έκβαση.

1.1.10 Νευροπαθολογικές αλλοιώσεις

Εργαστηριακά, αν και δεν υπάρχουν ευρήματα παθογνωμονικά για τη σχιζοφρένεια, εν τούτοις, ορισμένα ευρήματα ανευρίσκονται πιο συχνά σε σχιζοφρενικούς ασθενείς. Έτσι, δομικές νευροαπεικονιστικές τεχνικές, δηλαδή αξονική (CT) και μαγνητική τομογραφία (MRI) έχουν δείξει δομικές αλλοιώσεις στον εγκέφαλο, όπως διεύρυνση των κοιλιών, διεύρυνση των αυλακών και παρεγκεφαλιδική ατροφία.⁵⁶ Ακόμη ελάττωση του μεγέθους των βασικών γαγγλίων, ελάττωση του συνολικού μεγέθους του εγκεφάλου (εικόνα 6).

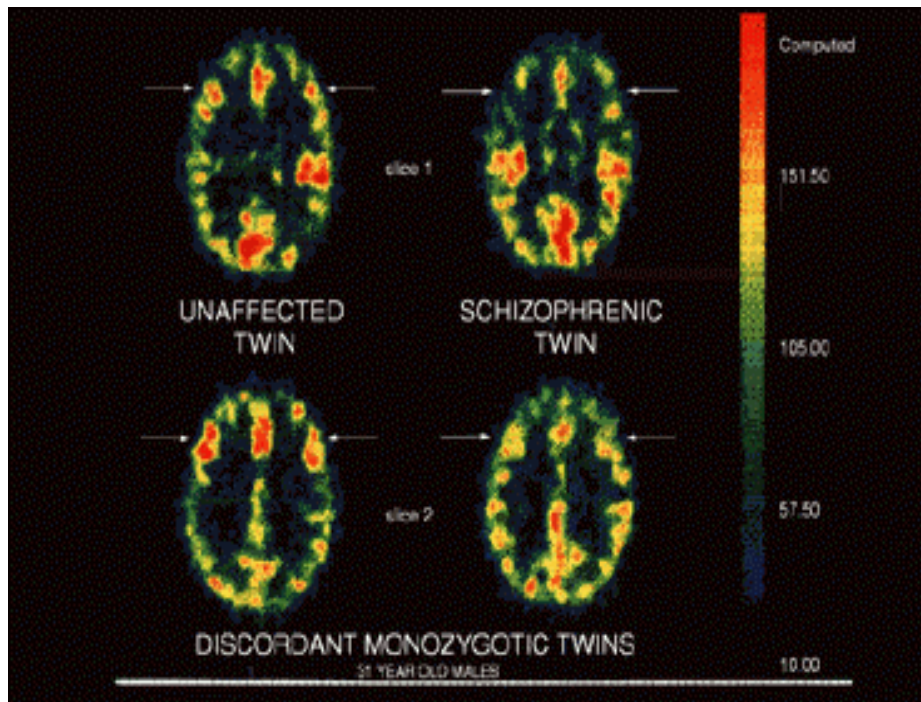
Λειτουργικές νευροαπεικονιστικές τεχνικές (SPECT, PET), έχουν δείξει ελαττωμένη ροή του αίματος ή ελαττωμένη κατανάλωση της γλυκόζης σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου όπως π.χ. στον προμετωπιαίο λοβό.⁵⁷

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET) είναι μία τεχνική απεικόνισης του εγκεφάλου που χρησιμοποιεί ένα ραδιενεργό ιχνηλάτη για να δείξει τη χημική δραστηριότητα του εγκεφάλου. Ο PET ανιχνευτής εντοπίζει τον προορισμό μίας ραδιοενεργά σημασμένης γλυκόζης, οξυγόνου ή φαρμάκου για να αποκαλύψει τα μέρη του εγκεφάλου που εμπλέκονται για την εκτέλεση μίας συγκεκριμένης εργασίας. Η PET τεχνική μας επιτρέπει να παρατηρούμε τις λειτουργίες του εγκεφάλου μετρώντας τα επίπεδα ενέργειας ή δραστηριότητας συγκεκριμένων περιοχών του εγκεφάλου. Η PET τεχνική δημιουργεί εικόνες του εργαζόμενου εγκεφάλου, παρέχοντας χάρτες συναισθημάτων, μάθησης, εικόνας και μνήμης. Για παράδειγμα, μπορούμε να χορηγήσουμε στους ασθενείς ραδιοεπισημασμένη γλυκόζη. Η γλυκόζη μετακινείται μέσα στον εγκέφαλο με τη ροή του αίματος. Από τη στιγμή που η γλυκόζη αποτελεί το φυσιολογικό καύσιμο του εγκεφάλου, όσο περισσότερο ενεργό είναι κάποιο μέρος του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια μίας εργασίας, τόσο περισσότερη γλυκόζη καταναλώνει. Ανιχνευτές της ραδιενέργειας εντοπίζουν την ραδιενεργή ουσία και στέλνουν τα στοιχεία σε ένα υπολογιστή όπου δίνει δύο διαστάσεων έγχρωμες εικόνες (το πιο έντονο χρώμα υποδηλώνει πιο έντονη δραστηριότητα) των ενεργών σημείων του εγκεφάλου (εικόνα 7). Στην εικόνα 7 φαίνεται ότι το άτομο με τη σχιζοφρένεια παρουσιάζει μειωμένη δραστηριότητα στον προμετωπιαίο λοβό-λιγότερο έντονο χρώμα. Η ταυτοποίηση αυτών των εγκεφαλικών λειτουργιών αποτελεί το κλειδί για την ανάπτυξη νέων μεθόδων για τη διάγνωση και θεραπεία της σχιζοφρένειας και άλλων διαταραχών του εγκεφάλου.⁵⁸



Εικόνα 6.

MRI απεικόνιση σε μονοζυγωτικούς διδύμους. Το άτομο δεξιά έχει σχιζοφρένεια, ενώ το άτομο αριστερά είναι υγιές. Τα κόκκινα τόξα εστιάζουν στις διευρυμένες κοιλίες στο άτομο με την ασθένεια (έχουν το σχήμα πεταλούδας). Αυτό υποδηλώνει μείωση του όγκου του εγκεφάλου στο άτομο με σχιζοφρένεια. Η MRI απεικόνιση δεν θέτει τη διάγνωση της σχιζοφρένειας στο γενικό πληθυσμό λόγω γενετικής ποικιλομορφίας που αφορά το μέγεθος των κοιλιών-πολλά υγιή άτομα έχουν μεγάλου μεγέθους κοιλίες.



Εικόνα 7.

Pet απεικόνιση στον εγκέφαλο δύο μονοζυγωτικών διδύμων, που όμως διαφέρουν στο ότι μόνο το ένα άτομο έχει εκδηλώσει την ασθένεια (ασυμφωνία μεταξύ των διδύμων). Φαίνεται ότι το άτομο με τη σχιζοφρένεια έχει μειωμένη δραστηριότητα του εγκεφάλου στους μετωπιαίους λοβούς (επάνω μέρος της απεικόνισης)

Στο μέλλον οι μελέτες με την PET τεχνική, που χρησιμοποιούν νέες ουσίες σύνδεσης με υποδοχείς, θα βοηθήσουν αναμφίβολα στη διευκρίνιση του ρόλου της ντοπαμίνης και των άλλων νευροδιαβιβαστικών ουσιών στη σχιζοφρένεια.

Νευροψυχολογικές δοκιμασίες δείχνουν διάφορες δυσλειτουργίες, όπως δυσκολία στον εστιασμό της προσοχής, δυσκολία στην αφαιρετική σκέψη ή δυσκολία στην αλλαγή του πλαισίου απάντησης.⁵⁹ Νευροφυσιολογικές δοκιμασίες δείχνουν επιβράδυνση του χρόνου αντίδρασης, προβλήματα στην παρακολούθηση με το βλέμμα κ.α.

1.2 ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΣΧΙΖΟΦΡΕΝΕΙΑΣ

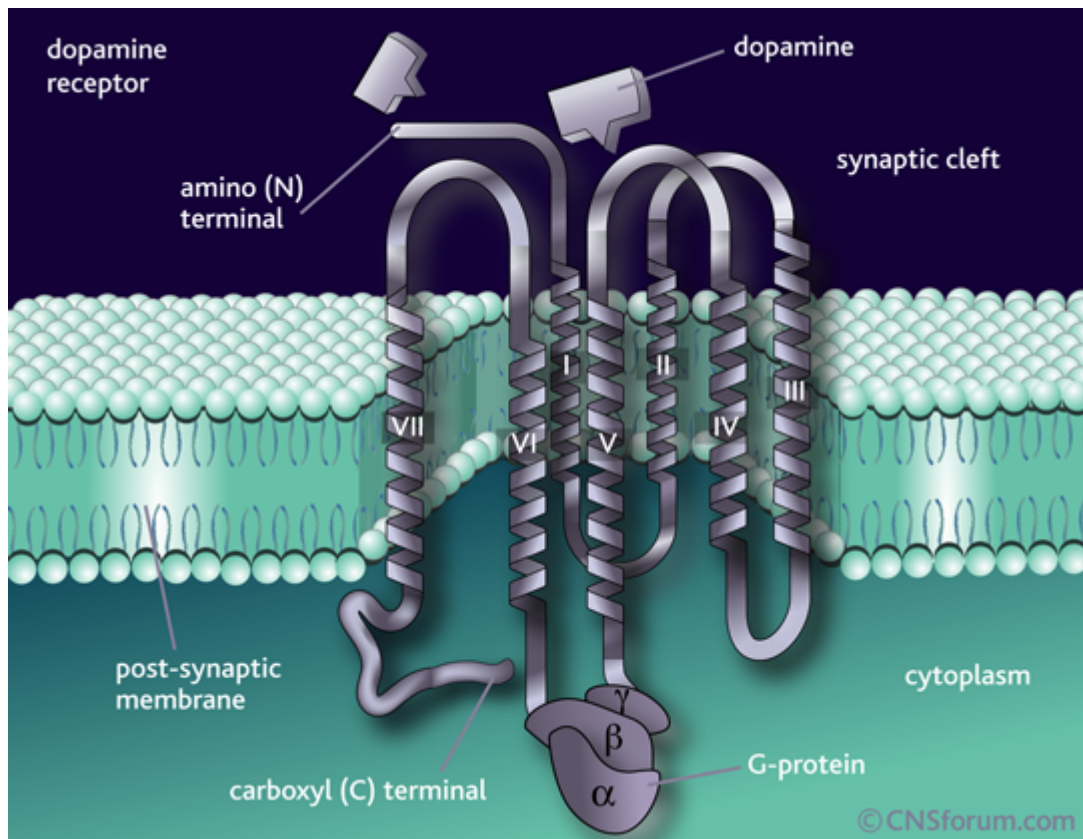
1.2.1. Νευροβιολογική βάση της σχιζοφρένειας

Η υπόθεση της ντοπαμίνης

Η πρώτη υπόθεση που εμφανίστηκε σχετικά με την νευροβιολογική βάση της σχιζοφρένειας ήταν η «υπόθεση της ντοπαμίνης». Στην αρχική της μορφή υποστηριζόταν ότι η σχιζοφρένεια είναι αποτέλεσμα ντοπαμινεργικής υπερδραστηριότητας και προέκυψε από το γεγονός ότι τα πρώτα αποτελεσματικά αντιψυχωτικά φάρμακα ήταν ανταγωνιστές των υποδοχέων ντοπαμίνης (D2).³¹ Επιπλέον η ρεσερπίνη, ουσία αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της ψύχωσης έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την κυστιδιακή αντλία στον προσυναπτικό νευρώνα. Με τον τρόπο αυτό αναστέλλεται η αποθήκευση νευροδιαβιβαστών σε κυστίδια.⁶⁰ Τέλος, μελέτες έδειξαν ότι η αμφεταμίνη, η οποία αυξάνει τα επίπεδα των μονοαμινών στη σύναψη, μπορεί να προκαλέσει ψυχωτικά συμπτώματα, γεγονός που ενίσχυσε ακόμη περισσότερο την υπόθεση της ντοπαμίνης.⁶¹ Παρόλα αυτά, η αρχική αυτή υπόθεση παρουσίαζε ορισμένα προβλήματα. Έτσι, οι χρήστες αμφεταμίνης εμφανίζουν μόνο τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας, και όχι τα αρνητικά συμπτώματα. Είναι επίσης γνωστό ότι τα κλασικά αντιψυχωτικά φάρμακα αντιμετωπίζουν ικανοποιητικά μόνο τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας και όχι τα αρνητικά ή τις γνωσιακές διαταραχές. Από τη στιγμή λοιπόν που και αυτά τα τελευταία άρχισαν να λογίζονται σαν «κύρια» συμπτώματα της νόσου, αλλά παράλληλα έγινε γνωστή και η πολυπλοκότητα του ντοπαμινεργικού συστήματος, φάνηκε η ανάγκη για αναθεώρηση της αρχικής υπόθεσης, η οποία έμοιαζε πια πολύ απλοϊκή.

Σήμερα, γνωρίζουμε 5 διαφορετικούς υποδοχείς ντοπαμίνης, οι οποίοι είναι χωρισμένοι σε δύο ομάδες (εικόνα 4).

1. D1-like: D1 και D5 (συνδεδεμένοι με το σύστημα της αδενυλκυκλάσης, κυρίως φλοιϊκή εντόπιση)
2. D2-like: D2 (αρνητικά με την αδενυλκυκλάση, ραβδωτό σώμα και μεταιχμιακό σύστημα), D3 (λοφίδιο κερκοφόρου), D4 (υψηλότερη συγγένεια για την κλοζαπίνη από όλους τους D υποδοχείς).



Εικόνα 8.

Υποδοχείς της ντοπαμίνης.

Οι υποδοχείς της ντοπαμίνης ανήκουν στην κατηγορία των μεταβοτροπικών υποδοχέων. Έχουν 7 διαμεμβρανικές έλικες. Η σύνδεση της ντοπαμίνης στην εξωκυττάρια περιοχή του υποδοχέα ενεργοποιεί G πρωτεΐνες, οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν δευτερεύοντα μονοπάτια. Το αποτέλεσμα μπορεί να είναι είτε ανασταλτικό είτε διεγερτικό ανάλογα με τον τύπο της G πρωτεΐνης που συνδέεται με τον υποδοχέα. Οι D1, D5 υποδοχείς συνδέονται με διεγερτικές G πρωτεΐνες, ενώ οι D2, D3 και D4 συνδέονται με ανασταλτικές G πρωτεΐνες. (Neve KA, et al. 2004)⁶²

1.2.2 Η διαμόρφωση της νεώτερης ντοπαμινεργικής υπόθεσης

Το 1991, οι Davis et al.⁶³ δημοσίευσαν ένα άρθρο ορόσημο, εξηγώντας την «αναθεωρημένη υπόθεση της ντοπαμίνης για τη σχιζοφρένεια», η οποία επανεξετάζε την αρχική υπόθεση της ντοπαμίνης υπό το πρίσμα των γνώσεων της εποχής.

Η σημαντικότερη καινοτομία της νέας υπόθεσης ήταν η περιοχική εξειδίκευση της ντοπαμίνης, λαμβάνοντας υπόψη νεκροτομικά και μεταβολικά ευρήματα, απεικονιστικά στοιχεία και μελέτες σε πειραματόζωα για φλοιϊκές και υποφλοιϊκές αλληλεπιδράσεις. Ήταν λοιπόν ξεκάθαρο εκείνη την εποχή ότι στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ή στον ορό ασθενών με σχιζοφρένεια δεν υπήρχαν πάντοτε αυξημένοι μεταβολίτες ντοπαμίνης. Επίσης, η έμφαση που δόθηκε στους D2 υποδοχείς αμφισβητήθηκε από το γεγονός ότι η κλοζαπίνη ήταν πολύ πιο αποτελεσματικό φάρμακο σε ασθενείς με ανθεκτικότητα στα άλλα αντιψυχωτικά φάρμακα, παρόλο που η κλοζαπίνη έχει χαμηλή συγγένεια και σύνδεση με τους D2 υποδοχείς. Οι Davis et al. λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω παράδοξα και τη γνώση ότι οι υποδοχείς της ντοπαμίνης κατανέμονται διαφορετικά στον εγκέφαλο, διατύπωσαν την άποψη ότι οι D1 υποδοχείς εντοπίζονται κυρίως στο φλοιό του εγκεφάλου και οι D2 κυριαρχούν στις υποφλοιώδεις περιοχές. Έτσι οι επιπτώσεις των διαταραχών της λειτουργίας της ντοπαμίνης ποικίλλουν ανάλογα με την περιοχή του εγκεφάλου.

Η μεγαλύτερη καινοτομία της «αναθεωρημένης υπόθεσης της ντοπαμίνης» ήταν η μετακίνηση από τη μονόπλευρη αρχική υπόθεση, όπου η υπερντοπαμινεργική κατάσταση εξηγούσε τα πάντα γύρω από τη σχιζοφρένεια, σε μία περιοχική εξειδίκευση, προμετωπιαία υποντοπαμινεργική κατάσταση και υποφλοιώδης υπερντοπαμινεργία. Υπάρχει ένας τρόπος «αυτορύθμισης» της δραστηριότητας του ντοπαμινεργικού συστήματος. Καταρχήν υπάρχει μια ανασταλτική επίδραση των ντοπαμινεργικών νευρώνων του φλοιού προς αυτού του ραβδωτού σώματος (έτσι καταστροφή των νευρώνων στον προμετωπιαίο φλοιό προκαλεί αύξηση της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στο ραβδωτό σώμα, λόγω άρσης της αναστολής), ενώ χορήγηση αγωνιστών ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό έχει ως αποτέλεσμα μείωση των επιπέδων μεταβολιτών ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα.⁶⁴ Ακόμη, βρέθηκε ότι η ευαισθησία των ντοπαμινεργικών νευρώνων στο ραβδωτό στο στρες αυξάνει, όταν υπολείπεται η λειτουργία της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό.

Από τις παραπάνω μελέτες διαπιστώθηκε ότι είναι σημαντικό στοιχείο η ρυθμιστική επίδραση της δραστηριότητας της ντοπαμίνης του προμετωπιαίου φλοιού επί αυτής του ραβδωτού.

1.2.2.1 Στοιχεία υπέρ της φλοιϊκής υπολειτουργίας

α) Νευροαπεικονιστικές Μελέτες

Μελέτες με αξονική τομογραφία (A/T) αναφέρουν διεύρυνση των κοιλιών σε σχιζοφρενείς. Μελέτες με μαγνητικό συντονισμό (MRI) αναφέρουν ότι ο όγκος του εγκεφαλικού ιστού στον κροταφικό λοβό και τον μετωπιαίο λοβό των σχιζοφρενών είναι μειωμένος σε σχέση με τους μάρτυρες. Ομοίως και του ιππόκαμπου. Αναφέρεται ακόμη μειωμένη δραστηριότητα των μετωπιαίων λοβών, τόσο με τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), όσο και με τομογραφία εκπομπής μονήρους δέσμης φωτονίων (SPECT).⁶⁵ Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET) και τομογραφία εκπομπής μονήρους δέσμης φωτονίων (SPECT) αποτελούν μεθόδους λειτουργικής απεικόνισης του εγκεφάλου, βασιζόμενες στη δυνατότητα εντόπισης υπομεταβολικών περιοχών η πρώτη και ανωμαλιών της αιμάτωσης η δεύτερη. Επιπλέον κατά την εκτέλεση ψυχολογικών δοκιμασιών που απαιτούν ενεργοποίηση των μετωπιαίων λοβών, βρέθηκε ότι η αύξηση της αιματικής ροής στους σχιζοφρενείς ήταν μικρότερη από αυτή των μαρτύρων. Τα ευρήματα αυτά, που έμμεσα δείχνουν υπολειτουργία των μετωπιαίων λοβών (Hypofrontality), ήταν πιο εμφανή σε σχιζοφρενείς με προεξέχοντα τα αρνητικά συμπτώματα.

Νεώτερες μελέτες συσχετίζουν την υπολειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού με πιθανή απώλεια νευρώνων στη συγκεκριμένη περιοχή, όπως έμμεσα προκύπτει από μετρήσεις της N-Acetylaspartase (NAA). Η NAA είναι ενδονευρωνικό αμινοξύ με υψηλότερη συγκέντρωση στα πυραμιδικά κύτταρα. Θεωρείται ότι δρα μέσω των NMDA (γλουταμινικών) υποδοχέων. Οι συγκεντρώσεις του μειώνονται σε καταστάσεις που αναστέλλεται ο ενεργειακός μεταβολισμός των μιτοχονδρίων, ή που επηρεάζεται η ακεραιότητα των νευρώνων. Έτσι λοιπόν το συγκεκριμένο αμινοξύ μετρήθηκε σε διάφορες περιοχές των εγκεφάλων τόσο σχιζοφρενών όσο και υγιών μαρτύρων και βρέθηκε σαφώς μειωμένο στον προμετωπιαίο φλοιό των πρώτων, χωρίς διαφορές σε άλλες εγκεφαλικές περιοχές, γεγονός που έμμεσα θεωρείται ότι δείχνει απώλεια νευρώνων στην περιοχή αυτή.^{66,67}

β) Συσχέτιση του ομοβανιλικού οξέος του εγκεφαλονωτιαίου υγρού με τη λειτουργία του φλοιού.⁶⁸

Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια παρουσιάζουν γνωσιακές διαταραχές, οι οποίες εκδηλώνονται με προβλήματα στη μάθηση και μνήμη, στην αδυναμία εστίασεως της προσοχής και εκτέλεσης μίας εργασίας. Όλες οι παραπάνω διαταραχές έχουν συσχετισθεί με υπολειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού, η οποία οφείλεται σε υπολειτουργία του μεσοφλοιώδους ντοπαμινεργικού συστήματος. Συνεπώς, οι ασθενείς με σχιζοφρένεια παρουσιάζουν μειωμένη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού και μειωμένη δράση νευρώνων της μεσοφλοιώδους ντοπαμινεργικής οδού. Επιπλέον, σε αντίθεση με τα υγιή άτομα, στους σχιζοφρενείς η ροή του αίματος στον προμετωπιαίο φλοιό δεν αυξάνεται κατά την επιτέλεση μίας εργασίας, που απαιτεί ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού. Η ροή του αίματος στον προμετωπιαίο φλοιό κατά τη διάρκεια ενεργοποίησής του σχετίζεται με την συγκέντρωση του ομοβανιλικού οξέος (HVA), μεταβολίτη της ντοπαμίνης, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η μέτρηση της συγκεντρώσεως του ομοβανιλικού οξέος στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό αποτελεί μέθοδος εκτίμησης της λειτουργίας της ντοπαμίνης και αφορά κυρίως το μεταβολισμό της φλοιϊκής παρά της υποφλοιώδους ντοπαμίνης. Ειδικότερα, στους σχιζοφρενείς, που έχουν επηρεασμένη τη γνωσιακή τους λειτουργία παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα ομοβανιλικού οξέος στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.⁶⁹

γ) Επίδραση των ανταγωνιστών της ντοπαμίνης στα αρνητικά συμπτώματα.⁷⁰

Οι νευρικές απολήξεις του μεσοφλοιώδους ντοπαμινεργικού συστήματος αποτελούνται από D1 και πιθανώς D5 υποδοχείς. Χορήγηση D1 ανταγωνιστών προκαλεί δοσοεξαρτώμενη μη σωστή ανταπόκριση κατά την επιτέλεση μίας εργασίας που απαιτεί ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού, ενώ χορήγηση ενός εκλεκτικού D2 ανταγωνιστή δεν έχει καμμία επίδραση.⁷¹ Επίσης, εάν σε υγιή άτομα χορηγηθεί αγωνιστής της ντοπαμίνης (βρωμοκρυπτίνη), παρουσιάζουν καλύτερη επίδοση σε δοκιμασίες μνήμης και ανάκλησης πληροφοριών.⁷²

Συμπερασματικά, οι μελέτες της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού έδειξαν ότι τα αρνητικά και μερικά τουλάχιστον από τα γνωσιακά συμπτώματα της σχιζοφρένειας σχετίζονται με υπολειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού, η οποία

ίσως, με τη σειρά της σχετίζεται με υπολειτουργία της μεσοφλοιώδους ντοπαμινεργικής οδού.

1.2.2.2 Στοιχεία υπέρ της υποφλοιώδους υπερλειτουργίας

Βάση της αρχικής υπόθεσης της ντοπαμίνης ήταν η υπερλειτουργία των νευρώνων της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Οι ενδείξεις συγκλίνουν στο ότι κάποια τουλάχιστον από τα συμπτώματα της νόσου οφείλονται σε ντοπαμινεργική υπερδραστηριότητα στο ραβδωτό ή τη μεσομεταιχμιακή οδό.

α) Νευροαπεικονιστικές Μελέτες

Προσδιορισμός των D2 υποδοχέων, *in vivo*, έδωσε αντικρουόμενα αποτελέσματα. Έτσι έχει περιγραφεί αύξηση σε ελεύθερους αγωγής σχιζοφρενείς, ή καμία διαφορά σε σχέση με υγιείς σε άλλες. Ένα ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι σε ασθενείς σε οξεία φάση της νόσου βρέθηκε αύξηση της πυκνότητας των D2 υποδοχέων σε σχέση με χρόνιους ασθενείς και υγιείς μάρτυρες.⁷³

β) pHVA (plasma Homovanillic acid) και η συσχέτισή του με το μηχανισμό δράσης των νευροληπτικών.

Οι συγκεντρώσεις του ομοβανιλικού οξέος στο πλάσμα, αντανakλούν τις συγκεντρώσεις του στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Τα νευροληπτικά αρχικά αυξάνουν και μετά μειώνουν τη συγκέντρωση του HVA, γεγονός που συνδέεται με το κλινικό τους αποτέλεσμα. Επίσης αυξημένα επίπεδα HVA είναι δείκτης καλής απάντησης στα νευροληπτικά.⁷⁴ Υποτροπή μετά από τη διακοπή των νευροληπτικών, συσχετίζεται με υψηλές συγκεντρώσεις του HVA.⁷⁵

Συμπερασματικά, δεν κατέστη δυνατόν να καταδειχθεί άμεσα ντοπαμινεργική υπερδραστηριότητα στη σχιζοφρένεια στις υποφλοιώδεις περιοχές. Οι μελέτες όμως έμμεσα δείχνουν αύξησή της στο ραβδωτό σώμα. Επίσης φαίνεται ότι το pHVA είναι χρήσιμος δείκτης της κεντρικής ντοπαμινεργικής δραστηριότητας.

Τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας θεωρείται ότι προκύπτουν από την υπερντοπαμινεργία στο ραβδωτό σώμα. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι

αυξημένα επίπεδα ντοπαμίνης συνεπάγονται περισσότερα θετικά συμπτώματα και ανταπόκριση στην αντιψυχωτική θεραπεία.⁶³

Παρά τη σημαντική πρόοδο που έγινε με την διατύπωση της «αναθεωρημένης υπόθεσης της ντοπαμίνης», η θεωρία αυτή έχει ορισμένες αδυναμίες. Με τη θεωρία αυτή δεν ήταν ξεκάθαρο πώς οι διαταραχές της ντοπαμίνης συνδέονται με τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Δεν υπήρχε το πλαίσιο που να περιγράφει πώς η υπερντοπαμινεργία στο ραβδωτό σώμα μεταφράζεται σε ψευδαισθήσεις ή πως η μετωπιαία υποντοπαμινεργία οδηγεί σε γνωσιακά ελλείμματα ή επιπέδωση του συναισθήματος για παράδειγμα.

1.2.3 Η εξέλιξη στη νευροχημική απεικονιστική στη σχιζοφρένεια

1.2.3.1 Η ντοπαμίνη στις υποφλοιώδεις περιοχές

Προσυναπτική Λειτουργία Ντοπαμίνης και Ντοπαμίνη στη Σύναψη

Αν και δεν είναι δυνατό να μετρήσουμε απευθείας στον ανθρώπινο οργανισμό τα επίπεδα της ντοπαμίνης, έχουν αναπτυχθεί τεχνικές που δίνουν έμμεσες ενδείξεις για τη σύνθεση της ντοπαμίνης, την απελευθέρωσή της και τα αναμενόμενα επίπεδα της στη σύναψη. Η προσυναπτική λειτουργία της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα μπορεί να μετρηθεί χρησιμοποιώντας ραδιοενεργά σημασμένα L-dopa, η οποία μετατρέπεται σε ντοπαμίνη και δεσμεύεται στις ντοπαμινεργικές νευρικές απολήξεις στο ραβδωτό σώμα έτοιμη για απελευθέρωση.⁷⁶ 7 στις 9 μελέτες σε ασθενείς με σχιζοφρένεια χρησιμοποιώντας αυτή την τεχνική έδειξαν αυξημένη ικανότητα σύνθεσης προσυναπτικής ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.^{77,78,79,80,81,82,83}

Το επόμενο βήμα στη μεταβίβαση της ντοπαμίνης είναι η απελευθέρωση της ντοπαμίνης στη σύναψη. Η συναπτική ντοπαμίνη του ραβδωτού σώματος που απελευθερώνεται προσδιορίζεται με PET και SPECT τεχνικές. Η ντοπαμίνη που απελευθερώνεται συναγωνίζεται έναν ράδιο-ιχνηλάτη και οδηγεί σε μείωση δέσμευσης του ιχνηλάτη. Αυτός είναι ένας έμμεσος τρόπος μέτρησης της απελευθερωμένης ντοπαμίνης.^{84,85} Όλες οι μελέτες, που χρησιμοποίησαν τον παραπάνω τρόπο προσέγγισης, διαπίστωσαν σχεδόν διπλάσια αντικατάσταση του ιχνηλάτη σε ασθενείς με σχιζοφρένεια σε σχέση με τους μάρτυρες.^{86,87}

Αυξημένη Σύνδεση των D2 Υποδοχέων με την Ντοπαμίνη στους Σχιζοφρενείς

Η δέσμευση των D2 υποδοχέων από την ντοπαμίνη μελετήθηκε σε ασθενείς με σχιζοφρένεια και σε υγιείς μάρτυρες. Με SPECT τεχνική εκτιμήθηκε αρχικά η διαθεσιμότητα των D2 υποδοχέων στους ασθενείς και στους μάρτυρες πριν γίνει καμία παρέμβαση, και στη συνέχεια αφού εξαντλήθηκε η ντοπαμίνη. Αυτό επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας a-methyl para-tyrosine (AMPT). Η AMPT αποκλείει τη λειτουργία του ενζύμου υδροξυλάση της τυροσίνης εμποδίζοντας έτσι τη σύνθεση της ντοπαμίνης. Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα η ενδογενής ντοπαμίνη εξαντλήθηκε από τη σύναψη και μεγαλύτερος αριθμός D2 υποδοχέων είναι

διαθέσιμος για να συνδεθεί με έναν ράδιο-ιχνηλάτη. Η διαφορά του αριθμού των υποδοχέων που συνδέονται με τον ιχνηλάτη μετά και πριν την κένωση της ντοπαμίνης είναι ενδεικτική της αναλογίας της δέσμευσης των D2 υποδοχέων από την ντοπαμίνη πριν την παρέμβαση.

Μετά από 48ώρες από τη χορήγηση του AMPT, η διαθεσιμότητα των D2 υποδοχέων στους σχιζοφρενικούς ασθενείς έχει αυξηθεί σημαντικά από την αρχική διαθεσιμότητα πριν τη χορήγηση του AMPT, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (19% έναντι 9% ; $p=0.005$).⁸⁸

Επιπλέον, μετά από 6 εβδομάδες αντιψυχωτικής αγωγής οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα συναπτικής ντοπαμίνης παρουσίασαν μεγαλύτερη βελτίωση των θετικών συμπτωμάτων τους ($r^2=0.45$, $p=0.01$).

Αντίθετα, ασθενείς που εμφανίζουν θετικά συμπτώματα, αλλά με σχεδόν φυσιολογική διέγερση των D2 υποδοχέων από την ντοπαμίνη, παρουσιάζουν μικρή βελτίωση αυτών των συμπτωμάτων τους. Αυτή η μελέτη υποστηρίζει την άποψη ότι η υπερδιέγερση των D2 υποδοχέων στη σχιζοφρένεια είναι μία από τις αιτίες των ψυχωτικών συμπτωμάτων.

1.2.3.2 Η Ντοπαμίνη στον φλοιό

Αύξηση του αριθμού των D1 υποδοχέων στον ραχιοπλευρικό προμετωπιαίο φλοιό

Στην σχιζοφρένεια πολλές διαταραχές εντοπίζονται στον φλοιό. Καθώς ο D1 υποδοχέας κυριαρχεί σ' αυτή την περιοχή του εγκεφάλου μελετήθηκε η διαθεσιμότητα των D1 υποδοχέων σε ασθενείς με σχιζοφρένεια και σε υγιείς μάρτυρες. Τα άτομα συνδυάστηκαν ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, την εθνικότητα, το οικογενειακό και κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο, καθώς και εάν είναι καπνιστές ή όχι, διότι το κάπνισμα θεωρείται ότι επηρεάζει το ντοπαμινεργικό σύστημα. Οι D1 υποδοχείς βρέθηκαν αυξημένοι σε όλο τον φλοιό του εγκεφάλου στους ασθενείς με σχιζοφρένεια σε σύγκριση με τους μάρτυρες, αλλά η μόνη περιοχή που έδειξε σημαντική διαφορά ήταν ο ραχιοπλευρικός προμετωπιαίος φλοιός ($p=0.02$).⁸⁹

Εκτίμηση της βραχύχρονης(ή εργαζόμενης μνήμης)

Ο ραχιοπλευρικός προμετωπιαίος φλοιός είναι σημαντικός για την εργαζόμενη μνήμη, η οποία είναι η μνήμη που διαρκεί λίγα δευτερόλεπτα και μας βοηθάει να σκεφτόμαστε πάνω σε κάποιο έργο που δουλεύουμε κάθε δεδομένη στιγμή. Η διαταραχή της εργαζόμενης μνήμης είναι χαρακτηριστική της σχιζοφρένειας. Για να ελέγξουμε την εργαζόμενη μνήμη έγινε το ακόλουθο πείραμα: τα άτομα παρακολουθούν μία σειρά από γράμματα, τα οποία παρουσιάζονται διαδοχικά σε μία οθόνη υπολογιστή και καλούνται να ανταποκριθούν όταν ένα γράμμα είναι όμοιο (i) με το αμέσως προηγούμενο, (ii) με δύο γράμματα πίσω ή (iii) με τρία γράμματα πίσω. Ο βαθμός δυσκολίας αυξανόταν καθώς τα άτομα είχαν να θυμηθούν τα γράμματα που έβλεπαν και να επαναφέρουν αυτή την πληροφορία στη μνήμη τους καθώς προχωρούσε η διαδικασία.⁹⁰

Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια ανταποκρίθηκαν λιγότερο καλά σε αυτό το τεστ βραχύχρονης μνήμης σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες.⁹¹ Επίσης είναι ενδιαφέρουσα η σχέση που βρέθηκε ανάμεσα στην παθολογική αύξηση των D1 υποδοχέων και την λειτουργία της εργαζόμενης μνήμης. Σε ασθενείς με σχιζοφρένεια υψηλή διαθεσιμότητα D1 υποδοχέων σχετίζεται με χαμηλή απόδοση στο τεστ μνήμης.

Έτσι ο αυξημένος αριθμός D1 υποδοχέων φαίνεται να είναι ένας ακριβής δείκτης πρόγνωσης χαμηλής επίδοσης στα τεστ μνήμης σε ασθενείς με σχιζοφρένεια. Η αύξηση των D1 υποδοχέων αντιπροσωπεύει έλλειμμα ντοπαμίνης στο φλοιό.

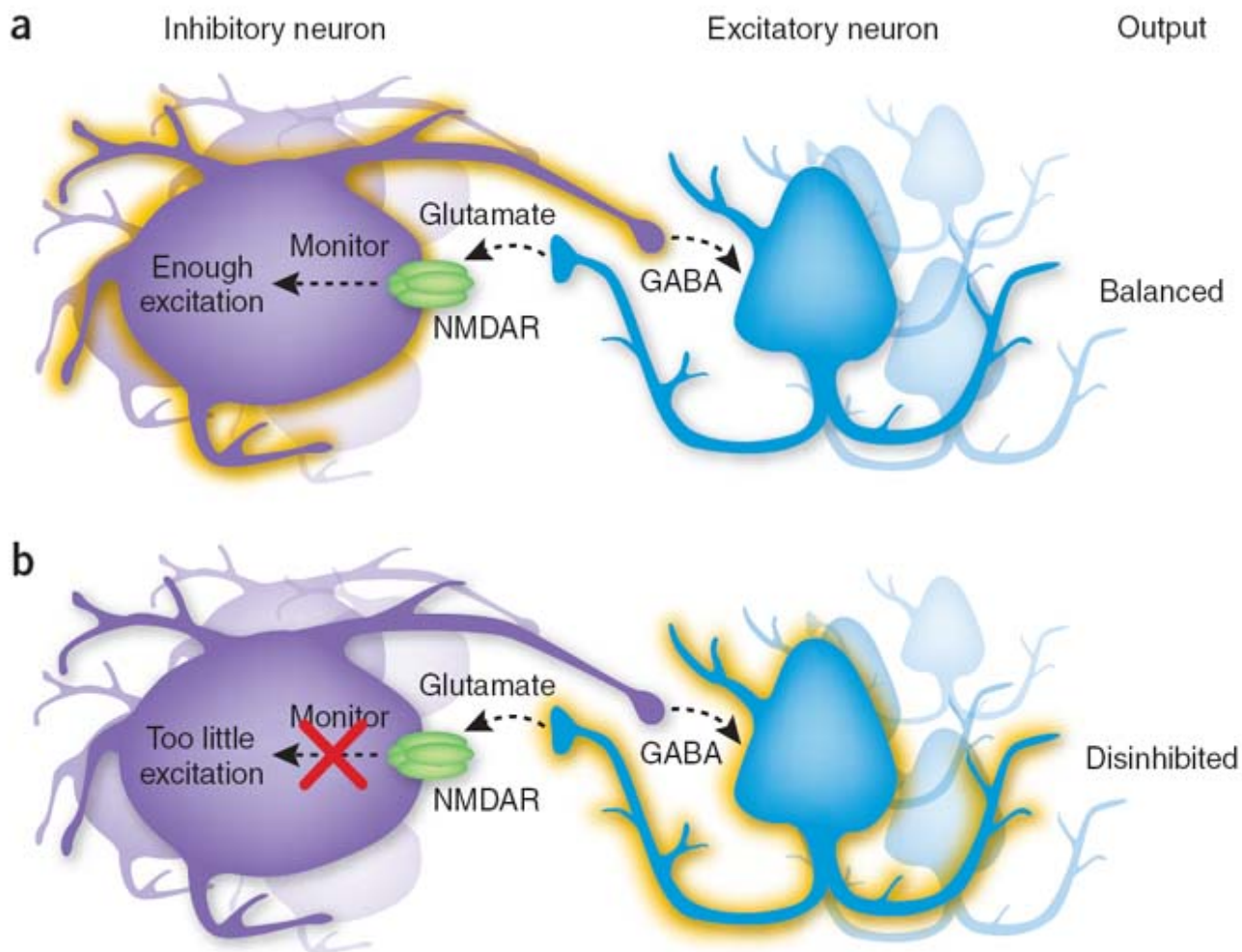
1.2.3.3 Αιτιολόγηση της συνύπαρξης αυξημένων επιπέδων ντοπαμίνης στις υποφλοιώδεις περιοχές και ταυτοχρόνως ελλειμματικής ποσότητας στο φλοιό

Η μεταβίβαση της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που ρυθμίζεται και από άλλους νευροδιαβιβαστές, όπως το γ-αμινοβουτυρικό (GABA) και το γλουταμινικό οξύ. Όταν χορηγηθεί κεταμίνη σε υγιείς μάρτυρες, η απελευθέρωση ντοπαμίνης αυξάνει στα επίπεδα των ασθενών με σχιζοφρένεια μετά από πρόκληση με αμφεταμίνη.⁹² Η κεταμίνη είναι ένας ανταγωνιστής των NMDA υποδοχέων, ενός τύπου υποδοχέων του γλουταμινικού οξέος, και προκαλεί ψυχωτικά συμπτώματα πολύ πιο έντονα από το LSD και την αμφεταμίνη. Συνεπώς, όταν χορηγηθεί σε ασθενείς με σχιζοφρένεια, αυξάνονται τα επίπεδα της ντοπαμίνης που απελευθερώνεται πολύ περισσότερο σε σχέση με τους μάρτυρες. Από τα παραπάνω

συμπεραίνεται ότι μία διαταραχή στους νευρώνες του γλουταμινεργικού συστήματος έχει συνέπειες στο μηχανισμό μεταβίβασης της ντοπαμίνης.

Οι νευρώνες της ντοπαμίνης στην κοιλιακή καλυπτική περιοχή βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο ενός διεγερτικού συστήματος, των γλουταμινεργικών κυττάρων που κατέρχονται από τον φλοιό, και ενός ανασταλτικού GABAεργικού συστήματος (εικόνα 9). Εάν ο συντονισμός των δύο συστημάτων διέγερσης και αναστολής είναι διαταραγμένος για κάποιο λόγο, όπως βλάβη στα γλουταμινεργικά πυραμιδικά κύτταρα ή υπολειτουργία των NMDA υποδοχέων, πράγμα που συμβαίνει στην σχιζοφρένεια, η μεταβίβαση της ντοπαμίνης στις υποφλοιώδεις περιοχές θα επηρεαστεί. Εάν και τα δύο συστήματα διαταραχθούν, το ανασταλτικό σύστημα θεωρείται ότι έχει την μεγαλύτερη επίδραση στην υποφλοιώδη ντοπαμίνη. Στα υγιή άτομα τα δύο αυτά συστήματα τείνουν να ακυρώσουν το ένα το άλλο. Όμως στη σχιζοφρένεια, κάτω από συνθήκες που προκαλείται αυξημένη απελευθέρωση ντοπαμίνης, όπως σε συνθήκες στρες ή πρόκληση με αμφεταμίνη, υπάρχει ανεπαρκής αναστολή στη μείωση των επιπέδων της ντοπαμίνης. Την ίδια στιγμή η διέγερση των μεσοφλοιϊκών ντοπαμινεργικών απολήξεων είναι ανεπαρκής. Έτσι παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα ντοπαμίνης στο φλοιό. Χαμηλά επίπεδα ντοπαμίνης οδηγούν σε χαμηλή διέγερση των D1 υποδοχέων με αποτέλεσμα υστέρηση της εργαζόμενης μνήμης.⁹³ Επιπλέον, αυτές οι αλλαγές δρουν και αντίστροφα, καθώς έχειδειχθεί ότι η φλοιϊκή ντοπαμίνη έχει ανασταλτική δράση πάνω στην υποφλοιώδη ντοπαμίνη. Το έλλειμμα της φλοιϊκής ντοπαμίνης συμβάλλει από μόνο του στην αύξηση της υποφλοιώδους ντοπαμίνης.⁹⁴

Συμπερασματικά μία ανωμαλία στο κύκλωμα που ρυθμίζει την ντοπαμίνη, το οποίο συμπεριλαμβάνει και άλλους νευροδιαβιβαστές, έχει ως αποτέλεσμα αυτό που παρατηρούμε – μία αύξηση της ντοπαμίνης στις υποφλοιώδεις περιοχές και κυρίως έλλειμμα ντοπαμίνης στο φλοιό.



Εικόνα 9.

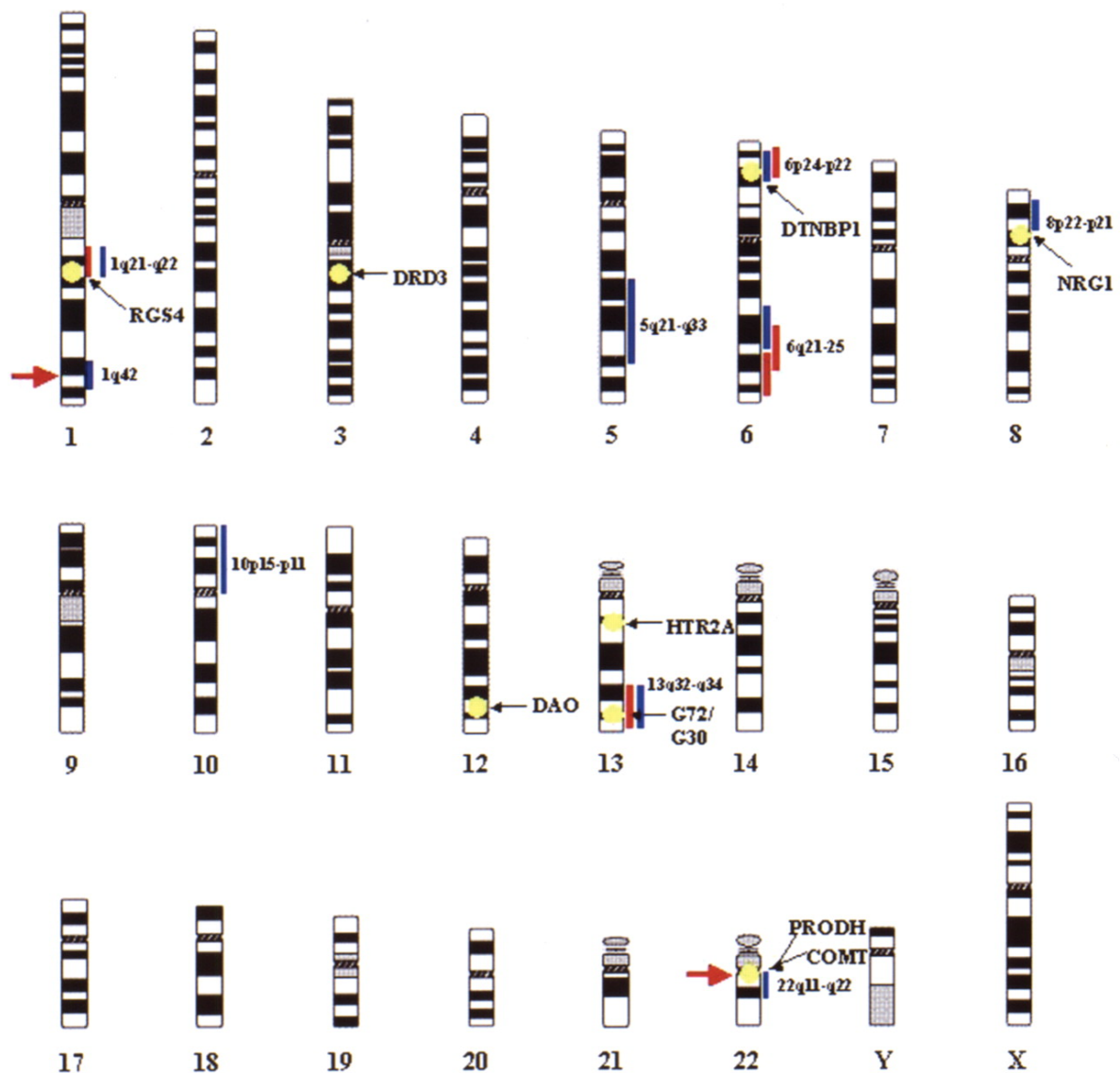
α) οι ανασταλτικοί νευρώνες ρυθμίζουν τα επίπεδα διέγερσης μέσω του NMDA υποδοχέα (NMDAR). Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι ανασταλτικοί νευρώνες ευθύνονται για την απελευθέρωση του GABA, έτσι ώστε να εξισορροπείται η αναστολή με τη διέγερση. β) στον φλοιό των ασθενών με σχιζοφρένεια, μειωμένη σηματοδότηση από τον NMDA υποδοχέα διαταράσσει αυτή την λειτουργία, εξαπατώντας τους ανασταλτικούς νευρώνες οι οποίοι δρουν σαν να υπάρχει μειωμένη δραστηριότητα ενεργοποίησης. Με αυτό τον τρόπο οι ανασταλτικοί νευρώνες μειώνουν τη δράση τους και δεν αναστέλλουν στο βαθμό που πρέπει τους διεγερτικούς νευρώνες. (Gordon JA.2010)⁹⁵

1.2.4 Γενετική αιτιολογία της σχιζοφρένειας

Η αναθεωρημένη υπόθεση της ντοπαμίνης δημοσιεύτηκε πριν από την αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και την τεράστια πρόοδο της έρευνας της γενετικής στη σχιζοφρένεια. Μετά από πάρα πολλές μελέτες φαίνεται ξεκάθαρα ότι κανένα μόνο γονίδιο δεν ευθύνεται για τη σχιζοφρένεια.⁹⁶ Όπως και σε πολλές άλλες πολυπαραγοντικές ασθένειες, έτσι και στη σχιζοφρένεια ένα σύνολο γονιδίων συμβάλλει κάθε ένα μ' ένα μικρό ποσοστό στην εκδήλωση της νόσου. Έτσι μέχρι σήμερα, παρόλο που ένας αριθμός γενετικών συσχετισμών έχει ταυτοποιηθεί, κανένας από αυτούς δεν ευθύνεται αποκλειστικά για την σχιζοφρένεια και για τους περισσότερους από αυτούς υπάρχουν υποψίες. Ορισμένοι από αυτούς συνδέονται με αλλαγές στη μεταβίβαση της ντοπαμίνης.⁹⁷ Όμως η λειτουργική συσχέτιση αυτών με τη δράση της ντοπαμίνης είναι άγνωστη.

Έχουν αναφερθεί τα χρωμοσώματα 1,3,5,6,8,10,12,13 και 22 ότι περιέχουν γονίδια που ευθύνονται για τη συχνή εμφάνιση του συνδρόμου σε συγκεκριμένες οικογένειες (εικόνα 10). Κάποια από τα γονίδια αυτά σχετίζονται με διαταραχές στους νευροδιαβιβαστές, όπως το γονίδιο της COMT, της G72 και της PRODH. Άλλα γονίδια σχετίζονται με κυτταροσκελετικές πρωτείνες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του εγκεφάλου, όπως το γονίδιο της πρωτεΐνης dysbindin, RGS4 και της πρωτεΐνης neureugulin 1.

Όλα αυτά τα στοιχεία δείχνουν μία ετερογενή γενετική βάση για τη σχιζοφρένεια.



Εικόνα 10.

Απεικόνιση των κύριων χρωμοσωμικών περιοχών, όπου μελέτες ανάλυσης-σύνδεσης έχουν δείξει ότι ίσως εμπλέκονται στην παθογένεια της σχιζοφρένειας. Τα κόκκινα τόξα δείχνουν περιοχές με χρωμοσωμικές ανωμαλίες που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια, ενώ οι κίτρινοι κύκλοι εστιάζουν σε περιοχές γονιδίων που πιθανώς ευθύνονται για την εμφάνιση της νόσου. (O'Donovan MC, et al. 2003)⁹⁸

Τα ακόλουθα γονίδια είναι υποψήφια για την εμφάνιση της νόσου :

- Neuregulin 1 (NRG1)

Είναι ένα γονίδιο 1,2Mb που εντοπίζεται στην περιοχή του χρωμοσώματος 8p12-21, την οποία μελέτες ανάλυσης-σύνδεσης έχουν δείξει ως μία περιοχή που εμπλέκεται στη σχιζοφρένεια. Επιστήμονες της ισλανδικής εταιρείας Decode

Genetics, που αναζητεί γονίδια υπεύθυνα για διάφορες ασθένειες, εντόπισε μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου στο 15% των Ισλανδών σχιζοφρενών.⁹⁹ Τα αλληλόμορφα κινδύνου και ο μηχανισμός παθογένειας παραμένει άγνωστος. Έχει προταθεί ότι ίσως αλλάζει τη έκφραση και τη δράση νευροδιαβιβαστών και κυρίως των NMDA γλουταμινεργικών υποδοχέων. Η NRG1 έχει δειχθεί ότι παίζει ρόλο στην μυελίνωση. Μία μη φυσιολογική μυελίνωση ευθύνεται για διαταραχές της λευκής ουσίας στη σχιζοφρένεια. Εναλλακτικά η NRG1 παίζει ρόλο στην ανάπτυξη των γλοιϊκών κυττάρων, με συνέπεια μη φυσιολογική NRG1 να οδηγεί σε ανεπάρκεια των νευρογλοιακών κυττάρων, αποσταθεροποίηση της σύναψης και επιρρέπεια στη σχιζοφρένεια.⁹⁹ Πειραματόζωμα, στα οποία έχει αφαιρεθεί η NRG1 πρωτεΐνη, παρουσιάζουν σοβαρές διαταραχές της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος καθώς και της καρδιάς.

- Dysbindin (DTNBP1)

Το γονίδιο αυτό εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p22. Μία συσχέτιση αυτού του γονιδίου και της σχιζοφρένειας για πρώτη φορά αναφέρθηκε στον Ιρλανδικό πληθυσμό.^{100,101} Μάλιστα τα αλληλόμορφα που θεωρήθηκαν ότι αυξάνουν τον κίνδυνο της ασθένειας βρέθηκαν σε μη-κωδικοποιημένες περιοχές του γονιδίου-ιντρόνια.¹⁰² Ο μηχανισμός κινδύνου παραμένει άγνωστος, πιθανολογείται όμως ότι παίζει ρόλο στη συναπτική δομή και στη λειτουργία του εγκεφάλου.¹⁰³

- Ρυθμιστής της G πρωτεΐνης σήματος 4 (RGS4)

Το γονίδιο αυτό εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1q21-22. Μειωμένη έκφραση αυτής της πρωτεΐνης έχει παρατηρηθεί στον προμετωπιαίο φλοιό των ασθενών με σχιζοφρένεια.¹⁰⁴ Η RGS4 μειώνει τα αποτελέσματα της σύνδεσης G πρωτεΐνης με υποδοχείς, συμπεριλαμβανομένων των υποδοχέων ντοπαμίνης και σεροτονίνης που εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου καθώς και γλουταμινεργικών υποδοχέων.¹⁰⁵

- D Amino Acid Oxidase (DAAO/G72)

Η περιοχή του χρωμοσώματος 13q22-34 είναι υποψήφια για τη εμφάνιση της σχιζοφρένειας. Στην περιοχή αυτή εντοπίστηκε το γονίδιο G72. Έρευνα έδειξε μία πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ της πρωτεΐνης G72 και της D amino acid oxidase

(DAAO).¹⁰⁶ Θεωρείται πιθανό οι δύο πρωτεΐνες να εμπλέκονται στη νευρομεταβίβαση του γλουταμινικού οξέος και ειδικότερα στη ρύθμιση του NMDA υποδοχέα.¹⁰⁷ Επίσης η G72/DAAO έχουν εμπλακεί και στην παθογένεια της διπολικής διαταραχής, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι η σχιζοφρένεια και η διπολική διαταραχή έχουν τουλάχιστον μερικούς κοινούς γενετικούς παράγοντες ευαισθητοποίησης.¹⁰⁸

- **PRODH**

Το γονίδιο της PRODH (proline dehydrogenase), έχει μελετηθεί για δύο λόγους. Πρώτον διότι βρίσκεται στην περιοχή του συνδρόμου μικροελλείματος 22q και δεύτερον διότι πειραματόζωα στα οποία είχε απενεργοποιηθεί το γονίδιο της PRODH παρουσίασαν διαταραχές παρόμοιες με τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας στους ανθρώπους.¹⁰⁹

- **DRD3/5HT2a**

Ο υποδοχέας D3 της ντοπαμίνης καθώς και ο υποδοχέας της σεροτονίνης 2a, όπως και η COMT έχουν εκτεταμένα θεωρηθεί αγαπημένα υποψήφια γονίδια από τους ερευνητές για την εκδήλωση της σχιζοφρένειας. Έχουν δημοσιευτεί θετικά και αρνητικά αποτελέσματα για τα δύο υποψήφια γονίδια. Μάλλον τα δύο γονίδια παίζουν μικρό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.¹⁰⁸

- **COMT**

Η περιοχή του χρωμοσώματος 22q11 έχει συσχετισθεί με διαταραγμένη νευρομεταβίβαση και επιρρέπεια στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας. Άτομα που φέρουν κάποιο έλλειμμα στην περιοχή 22q11, το οποίο ονομάζεται υπερώιο-καρδιο-προσωπικό σύνδρομο, παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένα περιστατικά σχιζοφρένειας, περίπου 25% με 30%. Επίσης, ποσοστό 2% ατόμων με διάγνωση σχιζοφρένειας φέρουν κάποιο έλλειμμα στην περιοχή 22q11. Το γονίδιο το οποίο ευθύνεται για τα συμπτώματα του υπερώιο-καρδιοπροσωπικού συνδρόμου δεν είναι γνωστό. Το γονίδιο της κατεχολο-Ο-μεθυλο-τρανφεράσης (COMT), βρίσκεται στην περιοχή 22q11. Για το λόγο αυτό είναι ένα υποψήφιο γονίδιο για την παθογένεια της σχιζοφρένειας.¹¹⁰ Η COMT συμμετέχει στον καταβολισμό κατεχολαμινών, συμπεριλαμβανομένης της ντοπαμίνης. Οι κατεχολαμίνες

απενεργοποιούνται είτε με επαναπρόσληψής τους από τον προσυναπτικό νευρώνα, είτε με μεταβολισμό τους από την μονοάμινο οξειδάση (MAO) ή την COMT. Στις περισσότερες περιοχές του εγκεφάλου η επαναπρόσληψη κυριαρχεί, έτσι η COMT δεν επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα των κατεχολαμινών. Σε αντίθεση, όμως, στον προμετωπιαίο φλοιό, ο οποίος ρυθμίζει τις γνωσιακές λειτουργίες που είναι διαταραγμένες στη σχιζοφρένεια, τα επίπεδα της ντοπαμίνης καθορίζονται από τα επίπεδα της COMT. Ένα από τα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου της COMT, που σχετίζεται με αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα της COMT, σχετίζεται επίσης με περιορισμένη ικανότητα σε δοκιμασίες μνήμης και μη επαρκή ενεργοποίηση του εγκεφάλου.¹¹¹ Αυτή η ανεπάρκεια στη νευρομεταβίβαση της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό μπορεί να ευθύνεται για ορισμένα από τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας.⁴⁴

Εκτός από την συμβολή των γενετικών παραγόντων στην παθογένεια της σχιζοφρένειας, κρίσιμο ρόλο για την εμφάνιση της ασθένειας παίζουν και άλλοι παράγοντες κινδύνου, που αλληλεπιδρούν με τους γενετικούς, κυρίως αναφερόμαστε στους περιβαλλοντικούς παράγοντες.

1.2.5 Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση σχιζοφρένειας

Διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας. Δείκτες κοινωνικής ετερότητας, όπως μετανάστευση¹¹², ανεργία, διαβίωση σε πόλεις με μεγάλη πληθυσμιακή πυκνότητα, όπου υπάρχει έντονο στρες, έλλειψη στενών φίλων, κακοποίηση στην παιδική ηλικία-όλα σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, που δεν μπορεί να ερμηνευτεί μόνο με γενετικούς παράγοντες.¹¹³ Οι παραπάνω δείκτες αποτελούν ένδειξη κοινωνικής απομόνωσης / υποταγής.¹¹⁴ Μελέτες σε πειραματόζωα, που βρίσκονταν σε συνθήκες κοινωνικής απομόνωσης και υποταγής, έδειξαν ότι αυτές οι συνθήκες οδηγούν σε ντοπαμινεργική υπερδραστηριότητα.^{115,116}

Άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως επιπλοκές εγκυμοσύνης ή περιγεννητικές επιπλοκές, ανοξαιμικές καταστάσεις όπως προεκλαμψία καθώς και διατροφική στέρηση, προγεννητικό στρες ανευρίσκονται συχνότερα στο ιστορικό των σχιζοφρενών σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.¹¹⁷ Υπάρχει σημαντική μαρτυρία από μοντέλα πειραματόζωων ότι παράγοντες κατά τη διάρκεια της κύησης και του τοκετού μπορούν να οδηγήσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα σε υπερδραστηριότητα της ντοπαμίνης στο μεσομεταιχμιακό σώμα.¹¹⁸ Έκθεση, επίσης, του νεογέννητου σε τοξίνες οδηγεί σε αυξημένη απόκριση συμπεριφοράς που οφείλεται στην ντοπαμίνη.¹¹⁹ Τέλος, στρες στο έμβρυο και στο νεογέννητο, όπως μητρική αποστέρηση, αυξάνει τον μεταβολισμό της ντοπαμίνης του ραβδωτού σώματος¹²⁰ και την απελευθέρωσή της.¹²¹ Όλα τα παραπάνω ευρήματα παραλληλίζονται με την αυξημένη προσυναπτική ντοπαμινεργική λειτουργία που απαντάται στη σχιζοφρένεια.

Επιπρόσθετα, ένας αριθμός από ψυχοδιεγερτικές ουσίες αυξάνουν τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια.¹²² Ακόμη και μικρές δόσεις ενός ψυχοδιεγερτικού, όπως αμφεταμίνη, μπορεί να ευαισθητοποιήσει το σύστημα της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα και να οδηγήσει σε συνεχείς σταθερές αυξήσεις της ποσότητας της ντοπαμίνης που απελευθερώνεται, ακόμη και μετά από μήνες αποχής.¹²³ Η χρήση κάνναβης αυξάνει τον κίνδυνο σχιζοφρένειας.¹²⁴ Αυτή δρα αρχικά στους κανναβινοειδείς υποδοχείς¹²⁵ αυξάνοντας την απελευθέρωση της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα.¹²⁶ Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι ακόμη και ψυχοδιεγερτικά φάρμακα, που δεν δρουν άμεσα στο σύστημα της ντοπαμίνης, μπορούν έμμεσα να επηρεάσουν την απελευθέρωσή της.

Συνεπώς, η σχιζοφρένεια δεν είναι αποτέλεσμα της επίδρασης ενός μεμονωμένου γονιδίου ή ενός μεμονωμένου γενετικού παράγοντα. Το πλέον αποδεκτό σήμερα πρότυπο είναι ο συνδυασμός και η αλληλεπίδραση πολλών γονιδίων και περιβαλλοντικών συνθηκών. Εάν η παθογόνος επίδραση ενός τέτοιου συνδυασμού ξεπεράσει τον ουδό 'ευαλωτότητας', τότε μπορεί να φτάσει σε επίπεδο καθοριστικό και ειδικό για την έκφραση της νόσου.

1.2.6 Σχιζοφρένεια ή Ψύχωση

Οι ψυχώσεις είναι μία κατηγορία ψυχιατρικών διαταραχών, στις οποίες διαταράσσεται αποφασιστικά η επαφή με την πραγματικότητα (δηλαδή η ικανότητα να αντιλαμβάνεται, να επεξεργάζεται και να αντιδρά κανείς με προσαρμοστικό τρόπο στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα), σε τέτοιο βαθμό που το άτομο δεν μπορεί να λειτουργήσει στην καθημερινότητά του.

Στο DSM-IV-TR γίνεται αναφορά στις παρακάτω ψυχωτικές διαταραχές¹²⁷ :

- Σχιζοφρένεια
- Σχιζοφρενικόμορφη διαταραχή
- Βραχεία ψυχωτική διαταραχή
- Σχιζοσυναισθηματική διαταραχή
- Ψυχωτική διαταραχή οφειλόμενη σε γενική ιατρική κατάσταση
- Ψυχωτική διαταραχή προκαλούμενη από ουσίες
- Παραληρητική διαταραχή
- Επινεμόμενη ψυχωτική διαταραχή (folie a deux)
- Ψυχωτική διαταραχή μη προσδιοριζόμενη διαφορετικά

Οι ψυχώσεις χαρακτηρίζονται κλινικά από την παρουσία παραληρητικών ιδεών, ψευδαισθήσεων και αλλόκοτης συμπεριφοράς. Τα θετικά συμπτώματα της σχιζοφρένειας αναφέρονται συχνά ως συμπτώματα της ψύχωσης. Μάλιστα, τα πρώτα συμπτώματα που εμφανίζονται στη σχιζοφρένεια είναι τα αρνητικά, ακολουθούν οι γνωσιακές διαταραχές και τελικά η ψύχωση. Δυστυχώς οι περισσότεροι ασθενείς ζητούν ψυχιατρική παρακολούθηση όταν παρουσιαστεί η ψύχωση.¹²⁸

Μελέτες δείχνουν ότι η λειτουργία της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα είναι αυξημένη σε άτομα με ψύχωση είτε έχουν σχιζοφρένεια, είτε η ψύχωση οφείλεται σε κάποια άλλη κατάσταση.^{11,129,130} Επομένως η ντοπαμινεργική δυσλειτουργία σχετίζεται περισσότερο με τη διάσταση της ψύχωσης. Επειδή η ψύχωση είναι χαρακτηριστικό στοιχείο της σχιζοφρένειας, διαταραχή της ντοπαμίνης παρατηρείται πάντα στη σχιζοφρένεια. Η αύξηση της ντοπαμίνης του ραβδωτού σώματος δεν παρατηρείται στην μανία, στην κατάθλιψη ή σε άλλες ψυχιατρικές διαταραχές χωρίς ψύχωση.¹³¹

Επομένως, η αύξηση της ντοπαμίνης φαίνεται να σχετίζεται με την προδιάθεση για ψύχωση, και όχι μόνο με την ψύχωση στη σχιζοφρένεια.

1.2.7 Σύνδεση των διαταραχών της ντοπαμίνης με την κλινική έκφραση της σχιζοφρένειας

Εάν μία νευροχημική υπόθεση, βασιζόμενη στη ντοπαμίνη ή σε κάποιον άλλο νευροδιαβιβαστή, πρόκειται να δώσει μία εξήγηση για μία ψυχιατρική ασθένεια, πρέπει να συνδέσει τις διαταραχές του νευροδιαβιβαστή με την κλινική έκφραση της ασθένειας. Έτσι, πιστεύεται ότι η υπερδραστηριότητα της ντοπαμίνης στον άνθρωπο και στα ζώα οδηγεί σε υπερφόρτιση το σύστημα επεξεργασίας πληροφοριών.¹³² Τα άτομα που πάσχουν, κατακλύζονται από ερεθίσματα και εμφανίζουν γνωσιακή διάσπαση και διαταραχές σκέψης. Ο εγκέφαλος χάνει την δυνατότητα επιλογής να καταγράψει το σπουδαίο ερέθισμα από το μηδαμινό. Το αποτέλεσμα είναι να έρχεται ο εγκέφαλος σε μία υπερδιέγερση καταγραφής όπου πλέον δημιουργεί μία κατάσταση «υπερεκτίμησης» του «ασήμαντου».¹³³ Κατά την κατάσταση αυτή, δηλαδή απλά ερεθίσματα όπως είναι το χτύπημα ενός κουδουνιού, ή η κόρνα ενός αυτοκινήτου, η φωνή ενός ανθρώπου, η οσμή κάποιου φαγητού καταγράφονται στον υπερθετικό βαθμό και αντιμετωπίζονται με μία υπέρμετρη διάθεση σοβαρότητας από την σημασία που έχουν. Το αποτέλεσμα είναι, να προκύπτει μια γενική σύγχυση στον εγκέφαλο, έτσι που να μην μπορεί να τα καταχωρήσει διαφορετικά και να λάβει για το καθένα από αυτά την σωστή απάντηση. Σε αυτό το στάδιο της σύγχυσης αρχίζει να παράγει λανθασμένες αντιλήψεις, οι οποίες φέρνουν λανθασμένες αντιδράσεις και όλο και περισσότερο έτσι «γλιστράει» το άτομο στην σχιζοφρενική κρίση.

Επομένως τα ψυχωτικά συμπτώματα, κυρίως τα οράματα και οι ψευδαισθήσεις, προκύπτουν καθώς ο ασθενής προσπαθεί ο ίδιος να εξηγήσει ανάλογα με την κοινωνική του κουλτούρα, τις γνώσεις του και την εμπειρία του ένα ερέθισμα. Έτσι, ψύχωση είναι η ανώμαλη αξιολόγηση κάποιου ερεθίσματος, η οποία ξεκινάει από την ντοπαμίνη και φιλτράρεται ανάλογα με τη γνωσιακή κατάσταση και την κοινωνική κουλτούρα του ατόμου. Γι' αυτό το λόγο παρατηρείται το φαινόμενο, η σχιζοφρένεια να εκδηλώνεται διαφορετικά σε άτομα διαφορετικής κουλτούρας.^{45,134,132}

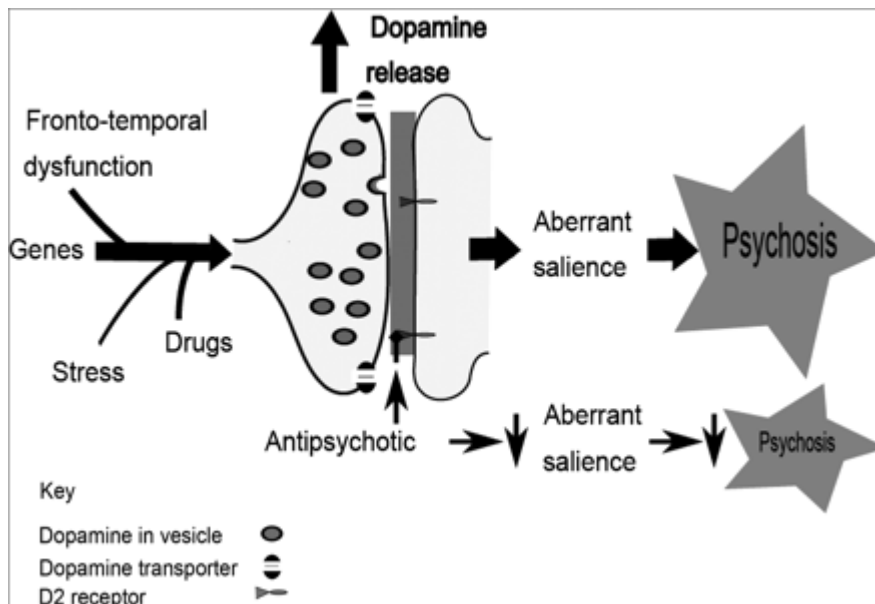
Τέλος, έχει καταδειχθεί ο ρόλος της ντοπαμίνης στην αξιολόγηση των κινήτρων και την ανταμοιβή-επιβράβευση στις επιτυχημένες ενέργειες. Η απορύθμιση της ντοπαμίνης αυξάνει τις παρεμβολές του συστήματος και καλύπτει το σήμα που σχετίζεται με το ερέθισμα που δείχνει ανταμοιβή. Το αποτέλεσμα είναι

μειωμένη ώθηση κινήτρων που με την πάροδο του χρόνου οδηγεί σε αρνητικά συμπτώματα, όπως κοινωνική απόσυρση και παραμέληση ενδιαφερόντων.^{135,136}

1.2.8 Η σύγχρονη υπόθεση της ντοπαμίνης

Η θεωρία αυτή αναφέρει τέσσερα χαρακτηριστικά στοιχεία:¹²⁹

- 1) Πολλαπλοί παράγοντες αλληλεπιδρούν και προκαλούν δυσλειτουργία της ντοπαμίνης. Η ντοπαμίνη είναι το τελικό κοινό μονοπάτι όλων των παραγόντων που οδηγούν σε ψύχωση στη σχιζοφρένεια (εικόνα 11).
- 2) Η περιοχή της δυσλειτουργίας της ντοπαμίνης μετακινείται από το επίπεδο των D2 υποδοχέων στο επίπεδο ελέγχου της προσυναπτικής ντοπαμίνης.
- 3) Η δυσλειτουργία της ντοπαμίνης σχετίζεται περισσότερο με την ψύχωση, παρά με τη σχιζοφρένεια και ίσως στο μέλλον μιλάμε για επιρρέπεια ψύχωσης. Η ακριβής διάγνωση όμως αντανακλά τη φύση των παραγόντων που ευθύνονται για τη νόσο σε συνδυασμό με το κοινωνικό και μορφωτικό υπόβαθρο του ατόμου και όχι μόνο τη δυσλειτουργία της ντοπαμίνης.
- 4) Τέλος, η δυσλειτουργία της ντοπαμίνης θεωρείται ότι μεταβάλλει την εκτίμηση ενός ερεθίσματος, μέσα από μία διαδικασία διαταραγμένης αξιολόγησης των ερεθισμάτων και αδυναμία εξοικείωσης με τα μηνύματα που προέρχονται είτε από το εξωτερικό είτε από το εσωτερικό περιβάλλον.



Εικόνα 11.

Πολλαπλοί παράγοντες αλληλεπιδρούν για απορυθμίσουν την ντοπαμίνη του ραβδωτού σώματος και μεταβάλλουν την ανταπόκριση στα ερεθίσματα και έτσι οδηγούν σε ψύχωση, ενώ τα μέχρι σήμερα χορηγούμενα αντιψυχωτικά δρουν στο τελικό στάδιο της ντοπαμινεργικής δυσλειτουργίας. (Howes OD, et al.2009)¹²⁹

Επομένως τα σύγχρονα αντιψυχωτικά φάρμακα δεν αντιμετωπίζουν την αρχική διαταραχή, αλλά δρουν στο τελικό στάδιο της διαταραχής. Έτσι ενώ μπλοκάρουν την ανεξέλεγκτη απελευθέρωση ντοπαμίνης, μπορεί παραδόξως να επιβαρύνουν την αρχική διαταραχή αποκλείοντας τους προσυναπτικούς D2 αυτοποδοχείς, οδηγώντας σε μία αντιρροπιστική αύξηση της σύνθεσης της ντοπαμίνης.¹³⁷ Υπάρχουν μελέτες σε υγιείς εθελοντές που δείχνουν ότι η οξεία αντιψυχωτική θεραπεία αυξάνει την προσυναπτική ικανότητα σύνθεσης ντοπαμίνης, ενώ η επιτυχής σταδιακή θεραπεία την μειώνει.¹³⁸ Παρόλα αυτά, η ικανότητα σύνθεσης προσυναπτικής ντοπαμίνης είναι αυξημένη σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιψυχωτική θεραπεία για μεγάλο χρονικό διάστημα. Αυτό ίσως εξηγεί γιατί οι ασθενείς υποτροπιάζουν γρήγορα, όταν σταματήσουν τη θεραπεία τους. Εφόσον τα φάρμακα μπορούν να επιδεινώσουν ακόμη περισσότερο την αρχική διαταραχή, ευθύνονται για ακόμη σοβαρότερες υποτροπές μετά τη διακοπή της θεραπείας. Έτσι ο στόχος είναι να σχεδιαστούν φάρμακα που να εστιάζονται στο να ρυθμίσουν την προσυναπτική λειτουργία της ντοπαμίνης του ραβδωτού σώματος, είτε άμεσα, είτε στα αρχικά στάδια της διαταραχής.

1.3 ΚΑΤΕΧΟΛ-Ο-ΜΕΘΥΛΟ-ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ (COMT)

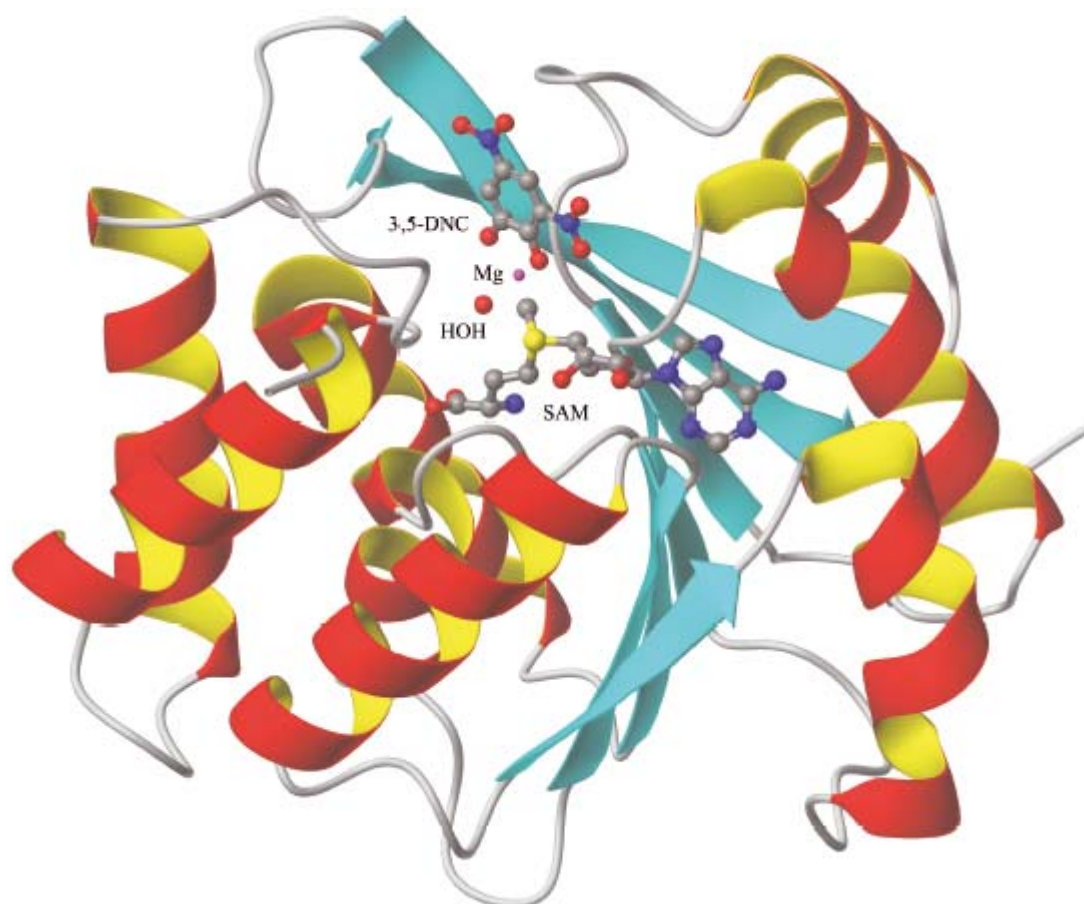
1.3.1 Περιγραφή του γονιδίου της COMT, πρωτεϊνικές ισομορφές και λειτουργικός του ρόλος του ενζύμου, Val/Met πολυμορφισμός

Η κατεχολο-ο-μεθυλο-τρανφεράση (COMT) είναι ένα ένζυμο που συμβάλλει στην αποικοδόμηση των κατεχολαμινών, όπως ντοπαμίνη, επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη. Καθώς η λειτουργία των κατεχολαμινών διαταράσσεται σε πολλές ασθένειες, πολλά φάρμακα έχουν στόχο δράσης την COMT, για να μεταβάλλουν τη λειτουργία της και έτσι τη διαθεσιμότητα των κατεχολαμινών. Η COMT πρώτη φορά ανακαλύφτηκε από τον βιοχημικό Julius Axelrod.¹³⁹ Το ένζυμο εισάγει μία μεθυλο-ομάδα στην κατεχολαμίνη, η οποία προσφέρεται από την S-αδενοσυλ-μεθειονίνη¹⁴⁰ (εικόνα 12).

Η Λεβοντόπα, ένας πρόδρομος των κατεχολαμινών, είναι σημαντικό υπόστρωμα της COMT. Αναστολείς της COMT, προστατεύουν τη λεβοντόπα από την COMT και παρατείνουν τη δράση της, γεγονός που βρίσκει εφαρμογή στη θεραπεία της ασθένειας του Parkinson.

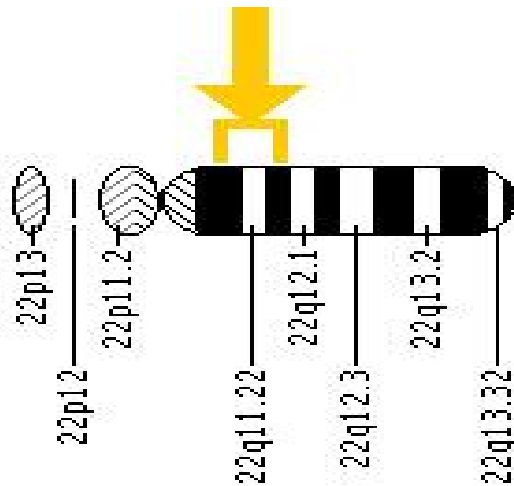
Η COMT πρωτεΐνη κωδικοποιείται από το γονίδιο της COMT. Εφόσον το ένζυμο της COMT εμπλέκεται στο μεταβολισμό της ντοπαμίνης, το γονίδιο της COMT είναι ένα υποψήφιο γονίδιο υπεύθυνο για την εμφάνιση σχιζοφρένειας.

Το γονίδιο της COMT βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22q11.2¹⁴¹ (εικόνα 13). Αποτελείται από έξι εξώνια και κωδικοποιεί δύο πρωτεϊνικές ισομορφές του ενζύμου που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη συγγένεια και δραστηριότητα για τα υποστρώματά τους.¹⁴² Στους περισσότερους ιστούς κυριαρχεί μία διαλυτή κυτταροπλασματική ισομορφή (S-COMT), ενώ στον εγκέφαλο εκφράζεται κυρίως μία μακρύτερη μορφή προσδεδεμένη σε μεμβράνη (MB-COMT).¹⁴³ Οι δύο ισομορφές διαφέρουν μεταξύ τους στο ότι η MB-COMT μορφή περιλαμβάνει 50 επιπλέον αμινοξέα και παρουσιάζει 10πλάσια συγγένεια για την ντοπαμίνη και την νοραδρεναλίνη σε σχέση με την S-COMT. Επομένως η MB-COMT μεταβολίζει καλύτερα τις κατεχολαμίνες και άρα και την ντοπαμίνη στον εγκέφαλο^{144,145} (εικόνα 14) και (εικόνα 15).



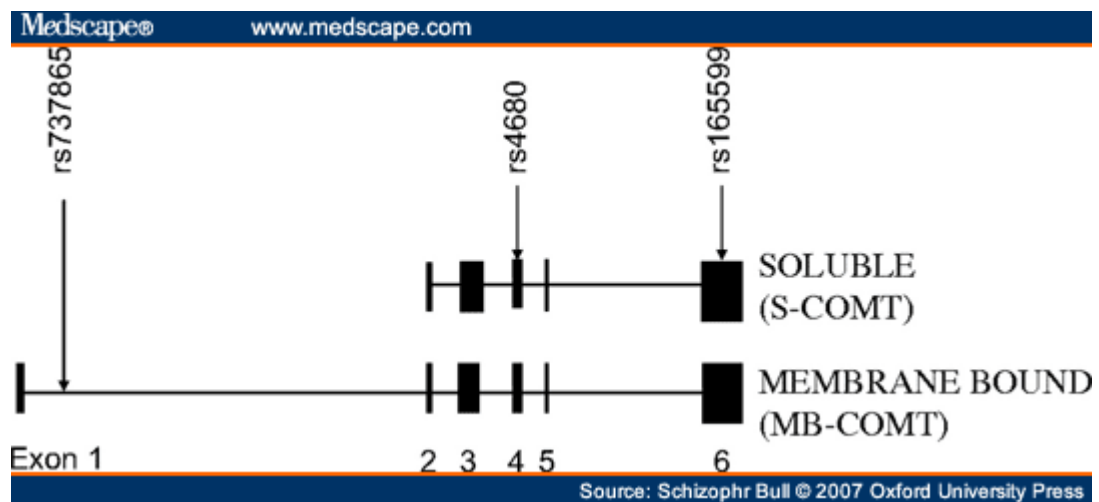
Εικόνα 12.

Σχηματική αναπαράσταση της τρισδιάστατης δομής της COMT. Η COMT με τη βοήθεια ιόντων Mg^{2+} καταλύει τη μεταφορά μίας μεθυλ-ομάδας, η οποία προσφέρεται από την S-αδενοσυλ-μεθειονίνη (S-adenosyl-L-methionine SAM) στην υδροξυλική ομάδα κατεχολαμινικών υποστρωμάτων, όπως λέβοντοπα, ντοπαμίνη, νοραδρεναλίνη κ.α.



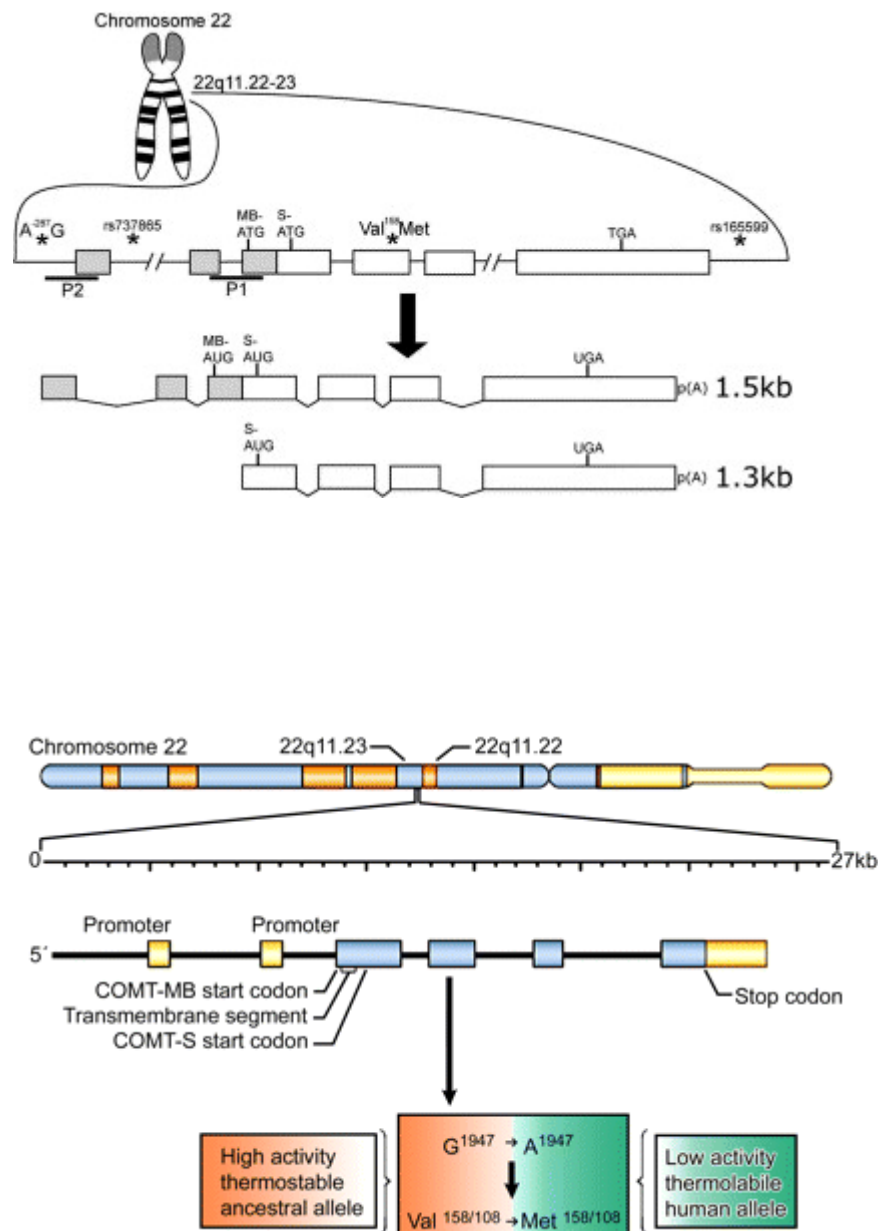
Εικόνα 13.

Το γονίδιο της COMT εντοπίζεται στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 22 μεταξύ των θέσεων 11.21 και 11.23.



Εικόνα 14.

Διάγραμμα των δύο πρωτεϊνικών ισομορφών της COMT και οι θέσεις των 3 πολυμορφισμών που αναφέρονται στη μελέτη των Shifman et al.(Williams HJ, et al.2007)¹⁴⁶



Εικόνα 15.

Το γονίδιο της COMT και τα 2 mRNA που μεταγράφεται. Το γονίδιο της COMT βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22q11.22-23. Το γονίδιο αποτελείται από 6 εξώνια (οι περιοχές με τη γκρι σκίαση βρίσκονται μόνο στο 1,5Kb μεταγραφόμενο RNA) και έχει 2 υποκινητές, P2 και P1, υπεύθυνους αντίστοιχα για την μεταγραφή των 1,5Kb και 1,3Kb RNA. Το γονίδιο της COMT περιέχει σημαντικούς πολυμορφισμούς, όπως rs737865, Val¹⁵⁸Met, και rs165599. Οι 3 αυτοί πολυμορφισμοί συνιστούν τον απλότυπο που σχετίζεται με τη σχιζοφρένεια σύμφωνα με τη μελέτη του Shiffman et al. (2002). Στην εικόνα φαίνονται οι θέσεις των κωδικονίων έναρξης (ATG/AUG) και το κωδικόνιο λήξης (TGA/UGA) καθώς και η poly-A ουρά. Σημειώνουμε ότι η MB-COMT πρωτεΐνη μπορεί να προέλθει μόνο από το 1,5Kb RNA.¹⁴⁷(Tunbridge et al 2006 val met beyond)¹⁴⁸

Στην αλληλουχία βάσεων του γονιδίου της COMT υπάρχει ένας συνηθισμένος G>A πολυμορφισμός (rs4680) (εικόνα 15). Ο πολυμορφισμός αυτός έχει σαν αποτέλεσμα την αντικατάσταση ενός μόνο αμινοξέος βαλίνη σε μεθειονίνη στη θέση 108 και 158 στην S-COMT και MB-COMT μορφή αντίστοιχα.¹⁴⁹ Ο πολυμορφισμός αναφέρεται συχνά ως Val/Met, αλλά είναι επίσης γνωστός ως rs4680. Η αντικατάσταση αυτή στα αμινοξέα προκαλεί διαφορετική ενεργότητα, και είναι η κυριότερη αιτία γενετικής ποικιλότητας της δράσης του ενζύμου της COMT. Το Val (G πολυμορφισμός) και το Met (A πολυμορφισμός) αλληλόμορφο μεταφέρουν υψηλή και χαμηλή ενεργότητα στο ένζυμο αντίστοιχα, διότι η Met¹⁵⁸ μορφή της COMT έχει χαμηλότερη θερμοσταθερότητα από την Val¹⁵⁸ μορφή.

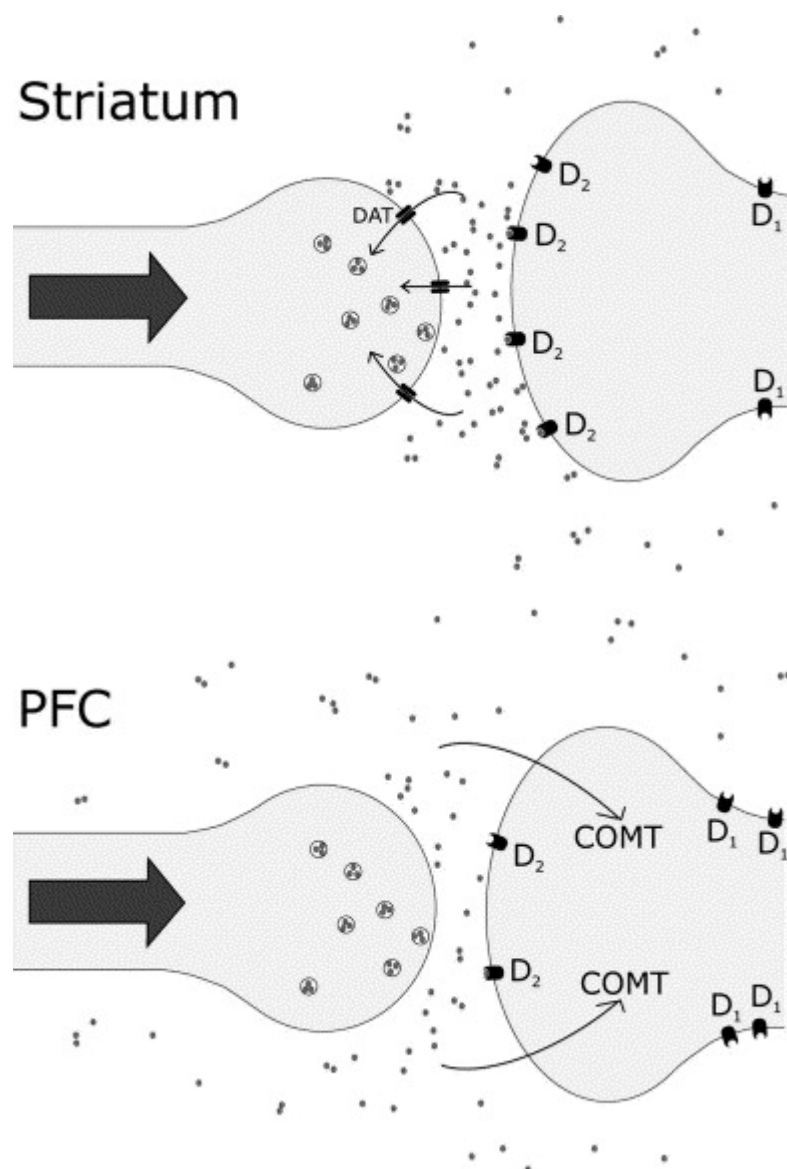
Έτσι, τα άτομα που είναι ομοζυγώτες για το Val¹⁵⁸ αλληλόμορφο παρουσιάζουν μεγαλύτερη δραστικότητα του COMT ενζύμου στο αίμα τους σε σχέση με τους Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες.^{149,150} Αυτή η μειωμένη δραστικότητα της Met¹⁵⁸ μορφής συντηρείται και στον εγκέφαλο, με τους Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες να έχουν περίπου κατά το ένα τρίτο λιγότερη δραστικότητα από τους Val¹⁵⁸ ομοζυγώτες.¹⁴³ Επειδή τα δύο αλληλόμορφα είναι συγκυρίαρχα, οι ετεροζυγώτες έχουν ενδιάμεσα επίπεδα δραστικότητας του ενζύμου.

Φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της εξέλιξης η δραστηριότητα της COMT τείνει να μειώνεται.¹⁵¹ Είναι πιθανό αυτή η γενικότερη μείωση να αντανάκλα το όφελος της χαμηλής δραστικότητας της COMT για τη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού στον άνθρωπο.¹¹¹ Όμως και το Met¹⁵⁸ αλληλόμορφο σχετίζεται με ορισμένους επιβλαβείς φαινότυπους, όπως συναισθηματική διαταραχή, ψυχαναγκαστική διαταραχή και καρκίνο του μαστού.¹⁵² Αυτοί οι πολλαπλοί και πολύπλοκοι συσχετισμοί υπογραμμίζουν την ανάγκη διατήρησης και των δύο αλληλόμορφων και την ποικιλιότητά τους στους διάφορους ανθρώπινους πληθυσμούς, διότι οι δυνάμεις επιλογής εξαρτώνται σε σημαντικό βαθμό και από περιβαλλοντικούς παράγοντες.¹⁵¹

1.3.2 COMT και λειτουργία της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό

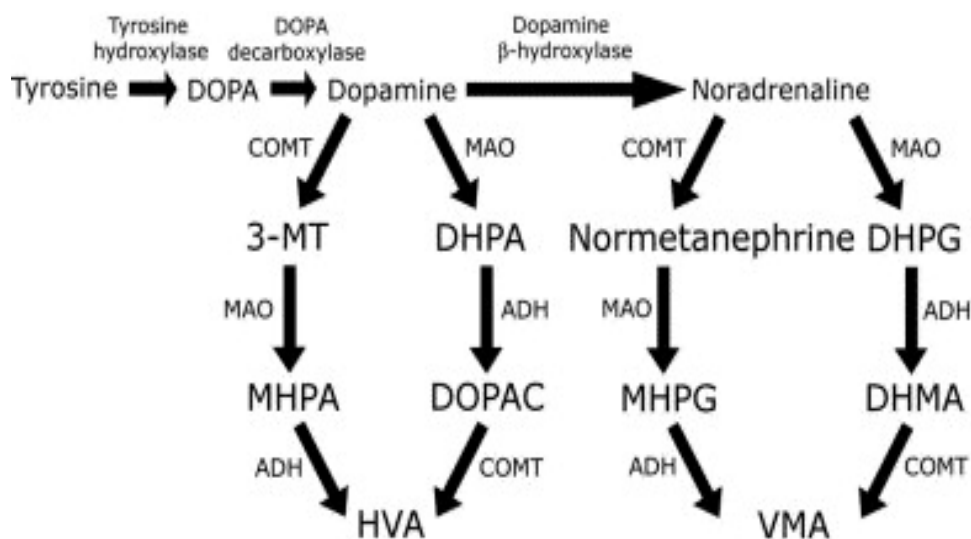
Η αποκοδόμηση της ντοπαμίνης γίνεται μέσω 2 κυρίως μονοπατιών (εικόνα 16).

- 1) Στις περισσότερες περιοχές του εγκεφάλου, όπως το ραβδωτό σώμα και τα βασικά γάγγλια η ντοπαμίνη απενεργοποιείται με επαναπρόσληψή της μέσω του μεταφορέα της ντοπαμίνης (DAT1) και στη συνέχεια διασπάται από το ένζυμο μονοαμινοοξειδάση (MAO) σε 3,4-διυδροξυφαινυλακετικό οξύ (DOPAC). Με τη βοήθεια της COMT μετατρέπεται η DOPAC σε ομοβανιλλικό οξύ (HVA)¹⁵³.
- 2) Στον προμετωπιαίο φλοιό όμως υπάρχει μικρή ποσότητα μεταφορέων της ντοπαμίνης, και έτσι η ντοπαμίνη απενεργοποιείται μέσω επαναπρόσληψης με τον μεταφορέα της νορεπινεφρίνης (NET) που βρίσκεται στους γειτονικούς νορεπινεφρινικούς νευρώνες¹⁵⁴. Στη συνέχεια διασπάται από την COMT σε 3-μεθοξυτυραμίνη (3-MT)¹⁵⁵. Κατόπιν με τη βοήθεια της MAO η 3-MT μετατρέπεται σε HVA (εικόνα 17).



Εικόνα 16.

Ντοπαμινεργική μετάδοση στον προμετωπιαίο φλοιό και στο ραβδωτό σώμα. Στο ραβδωτό σώμα ο μεταφορέας της ντοπαμίνης (DAT) είναι υπεύθυνος για την απομάκρυνση της ντοπαμίνης από την συναπτική σχισμή, με την COMT να παίζει πολύ μικρό ρόλο στην απομάκρυνση της ντοπαμίνης. Στον προμετωπιαίο φλοιό όμως έλλειψη του μεταφορέα της ντοπαμίνης στη σύναψη έχει ως αποτέλεσμα η COMT να παίζει τον κύριο ρόλο στην απενεργοποίηση της ντοπαμίνης. Έτσι λιγότερη δραστηριότητα της COMT παρατηρείται στα άτομα που φέρουν το Met¹⁵⁸ αλληλόμορφο και συνεπώς τα άτομα αυτά έχουν αυξημένη ντοπαμίνη στον προμετωπιαίο φλοιό σε σύγκριση με τα άτομα που είναι φορείς του Val¹⁵⁸ αλληλίου. Striatum=ραβδωτό σώμα, PFC=προμετωπιαίος φλοιός. (Tunbridge et al. 2006)¹⁴⁷



Εικόνα 17.

Σύνθεση και μεταβολισμός της ντοπαμίνης και νοραδρεναλίνης. Η ντοπαμίνη αποικοδομείται σε homovanillic acid (HVA) και η νοραδρεναλίνη σε vanillylmandelic acid (VMA) από τα ένζυμα COMT και MAO και aldehyde dehydrogenase (AD). Τα ενδιάμεσα προϊόντα είναι 3-methoxytryptamine (3-MT), 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde (DHPA), 3-methoxy-4-hydroxyphenylacetaldehyde (MHPA), 3,4-dihydroxyphenylacetic (DOPAC), dihydroxyphenylglycol (DHPG), 3,4-dihydroxymandelic acid (DHMA), και 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG).¹⁴⁷ (Tunbridge et al. 2006)

Συμπερασματικά, ο ρόλος της COMT στον καταβολισμό των κατεχολαμινών είναι μικρής σημασίας σε σχέση με αυτόν της μονοαμινοοξειδάσης. Αυτό δεν ισχύει όμως στον καταβολισμό της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό. Επιπλέον η COMT δεν επηρεάζει τα επίπεδα της νοραδρεναλίνης στον προμετωπιαίο φλοιό¹⁵⁶. Ο μηχανισμός με τον οποίο η COMT ρυθμίζει την ντοπαμίνη, αλλά όχι την νοραδρεναλίνη παραμένει άγνωστος μέχρι στιγμής.

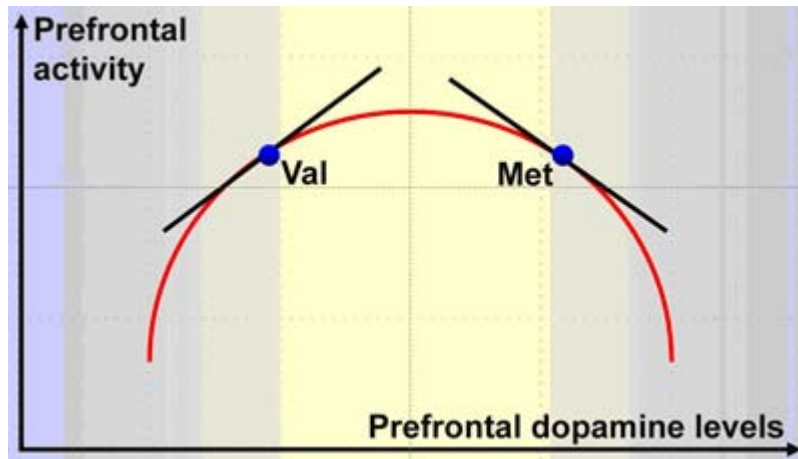
Επιπρόσθετα, η COMT επηρεάζει την δραστηριότητα των ντοπαμινεργικών νευρώνων στον μέσο εγκέφαλο έμμεσα με μηχανισμό ανάδρασης του προμετωπιαίου φλοιού. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η προμετωπιαία λειτουργία της ντοπαμίνης ρυθμίζει την υποφλοιϊκή λειτουργία της ντοπαμίνης. Θεωρείται ότι η δραστηριότητα του προμετωπιαίου φλοιού αναστέλλει τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες μέσω ανασταλτατικών GABAεργικών νευρώνων στο μέσο εγκέφαλο ή ραβδωτό σώμα¹⁵⁷.

Έτσι η λειτουργία της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό και το ραβδωτό σώμα ρυθμίζονται αντίστροφα. Η COMT παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του παραπάνω μηχανισμού, λόγω του σημαντικού της ρόλου στον καταβολισμό της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό.

Η έκφραση της υδροξυλάσης της τυροσίνης (TH), του ενζύμου που ρυθμίζει τη βιοσύνθεση της ντοπαμίνης, σχετίζεται με τον Val¹⁵⁸Met γονότυπο. Άτομα Val¹⁵⁸ομοζυγώτες, τα οποία παρουσιάζουν αυξημένη δράση της COMT και έτσι έχουν χαμηλά επίπεδα προμετωπιαίας ντοπαμίνης, εμφανίζουν περισσότερη έκφραση στο μέσο εγκέφαλο του mRNA του TH ενζύμου και έτσι περισσότερη βιοσύνθεση ντοπαμίνης, σε σύγκριση με τους Val¹⁵⁸Met ετεροζυγώτες^{158,159}.

1.3.3 COMT και μοντέλο ανάστροφου ‘U’

Τα επίπεδα της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό είναι σημαντικά για τη ρύθμιση της γνωσιακής λειτουργίας. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι ο προμετωπιαίος φλοιός λειτουργεί καλύτερα όταν η δράση της ντοπαμίνης δεν είναι ούτε πολύ χαμηλή, ούτε πολύ υψηλή, και η βέλτιστη δράση αντιστοιχεί στην κορυφή ενός ανάποδου “U”, όπως φαίνεται στην εικόνα 18.¹⁶⁰



Εικόνα 18.

Μοντέλο ανάστροφου “U”

Σύμφωνα με το παραπάνω μοντέλο, τα άτομα που φέρουν το val αλληλόμορφο κατατάσσονται στην αριστερή κλίση της καμπύλης και έχουν χαμηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης, ενώ τα άτομα με το met αλληλόμορφο βρίσκονται στη δεξιά κλίση της καμπύλης και έχουν υψηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης.

Το παραπάνω μοντέλο προτείνει ότι η ντοπαμίνη συντονίζει τους προμετωπιαίους νευρώνες για να πετύχουν τη βέλτιστη λειτουργία, όπως ακριβώς επιλέγουμε ένα σταθμό στο ραδιόφωνο. Για να εξασφαλίσουμε καλύτερο σήμα του σταθμού πρέπει να περιστρέψουμε δεξιά, αριστερά το κουμπί του ραδιοφώνου. Έτσι ανάλογα με τη μορφή του COMT γονιδίου που ένα άτομο κληρονομεί έχουμε :

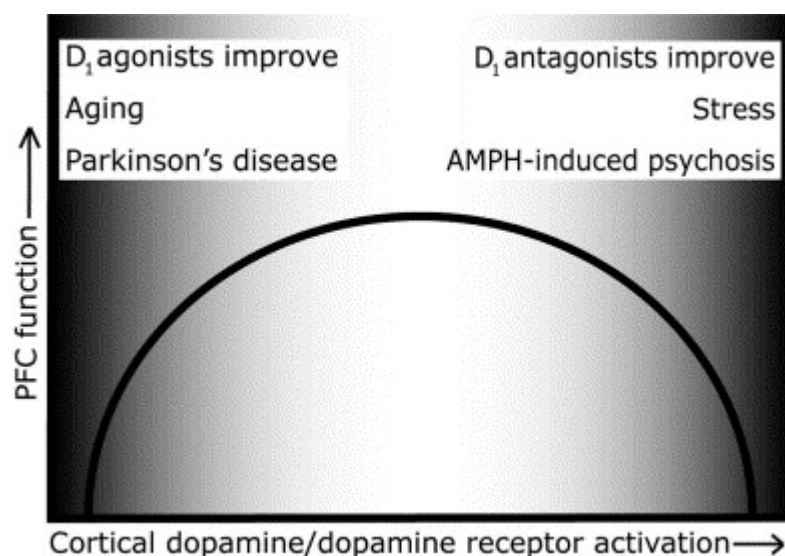
- Εάν το άτομο φέρει το val αλληλόμορφο, επιτυγχάνονται καλύτερα αποτελέσματα με αύξηση των επιπέδων της προμετωπιαίας ντοπαμίνης, ενώ
- Εάν το άτομο φέρει το met αλληλόμορφο, επιτυγχάνονται καλύτερα αποτελέσματα με τη μείωση των επιπέδων της προμετωπιαίας ντοπαμίνης.

Παράδειγμα, τα άτομα που έχουν κληρονομήσει το val αλληλόμορφο και εμφανίζουν σχιζοφρένεια χαρακτηρίζονται από πολύ χαμηλή προμετωπιαία και αυξημένη στον

μέσο εγκέφαλο ντοπαμίνη. Στην περίπτωση αυτή το κουμπί συντονισμού πρέπει να στραφεί προς τα επάνω και να αυξηθεί η προμετωπιαία ντοπαμίνη.

Συμπερασματικά, το μοντέλο του αντίστροφου 'U' συσχετίζει τον τύπο του COMT γονιδίου (val,met), τη δράση του προμετωπιαίου φλοιού και τα επίπεδα της προμετωπιαίας ντοπαμίνης. Ο φλοιός λειτουργεί βέλτιστα όταν η δράση της ντοπαμίνης είναι ούτε πολύ χαμηλή ούτε πολύ υψηλή, αντιστοιχίζοντας την βέλτιστη λειτουργία στην κορυφή της καμπύλης. Η ντοπαμίνη πιστεύεται ότι συντονίζει τους προμετωπιαίους νευρώνες, αλλά σε αντίθετες κατευθύνσεις, ανάλογα εάν το άτομο έχει κληρονομήσει το Val ή το Met αλληλόμορφο του COMT γονιδίου.

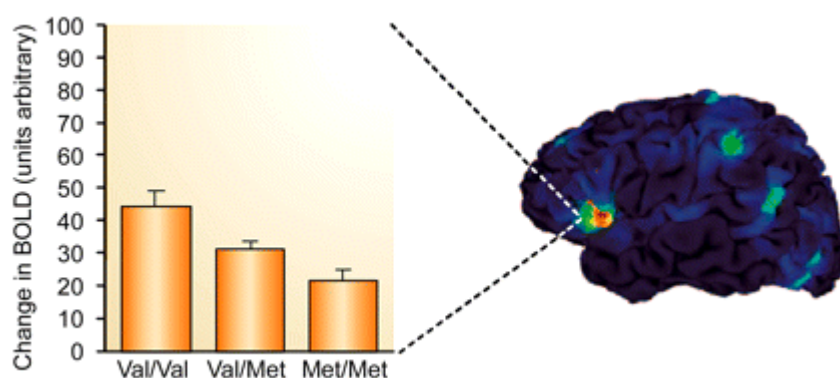
Στην εικόνα 19 απεικονίζεται επίσης η σχέση του ανάποδου 'U' μεταξύ δραστηριότητας ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό και της απόδοσης της εργαζόμενης μνήμης. Αυτή σχέση είναι το αποτέλεσμα πολύπλοκων επιδράσεων των D1 και D2 υποδοχέων πάνω στους τοπικούς γλουταμινικούς και GABAεργικούς νευρώνες.¹⁶¹ Συνεπώς η εργαζόμενη μνήμη επηρεάζεται από την τοπική έγχυση D1 ανταγωνιστών και αγωνιστών στον προμετωπιαίο φλοιό.¹⁶²



Εικόνα 19.

Το σχήμα του ανάποδου 'U' απεικονίζει τη σχέση μεταξύ ντοπαμίνης και λειτουργίας προμετωπιαίου φλοιού¹⁶⁰ (Goldman-Rakic et al 2000). Ο προμετωπιαίος φλοιός λειτουργεί βέλτιστα σε ενδιάμεσα επίπεδα ντοπαμίνης (περιοχή ανοιχτού χρώματος), τα οποία επηρεάζονται από τους D1 και D2 υποδοχείς¹⁶³ (Winterer and Weinberger, 2004). Η λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού διαταράσσεται σε καταστάσεις ντοπαμινεργικής υπολειτουργίας (π.χ. με την αύξηση της ηλικίας και σε ασθενείς με Parkinson) καθώς και ντοπαμινεργικής υπερλειτουργίας (π.χ. σε καταστάσεις stress ή όταν προκαλείται ψύχωση λόγω χορήγησης αμφεταμίνης)(Tunbridge et al. 2006)¹⁴⁷

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η COMT είναι ένα πολύ ενδιαφέρον υποψήφιο γονίδιο για να τροποποιεί τη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού. Πράγματι πολλές μελέτες επιβεβαιώνουν αυτό το γεγονός. Οι Egan και οι συνεργάτες του (2001) έδειξαν ότι τα άτομα που φέρουν το Val¹⁵⁸ αλληλόμορφο της COMT ανταποκρίνονται λιγότερο καλά στο τεστ μνήμης (Wisconsin Card Sorting Test) σε σχέση με τους Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες, ενώ οι ετεροζυγώτες παρουσιάζουν ενδιάμεση ανταπόκριση. Οι Val¹⁵⁸ ομοζυγώτες χρησιμοποιούν τον προμετωπιαίο φλοιό τους λιγότερο αποτελεσματικά από τους Met¹⁵⁸ φορείς και χρειάζονται μεγαλύτερη ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού για να επιτελέσουν μία συγκεκριμένη εργασία (εικόνα 20).^{111, 164}

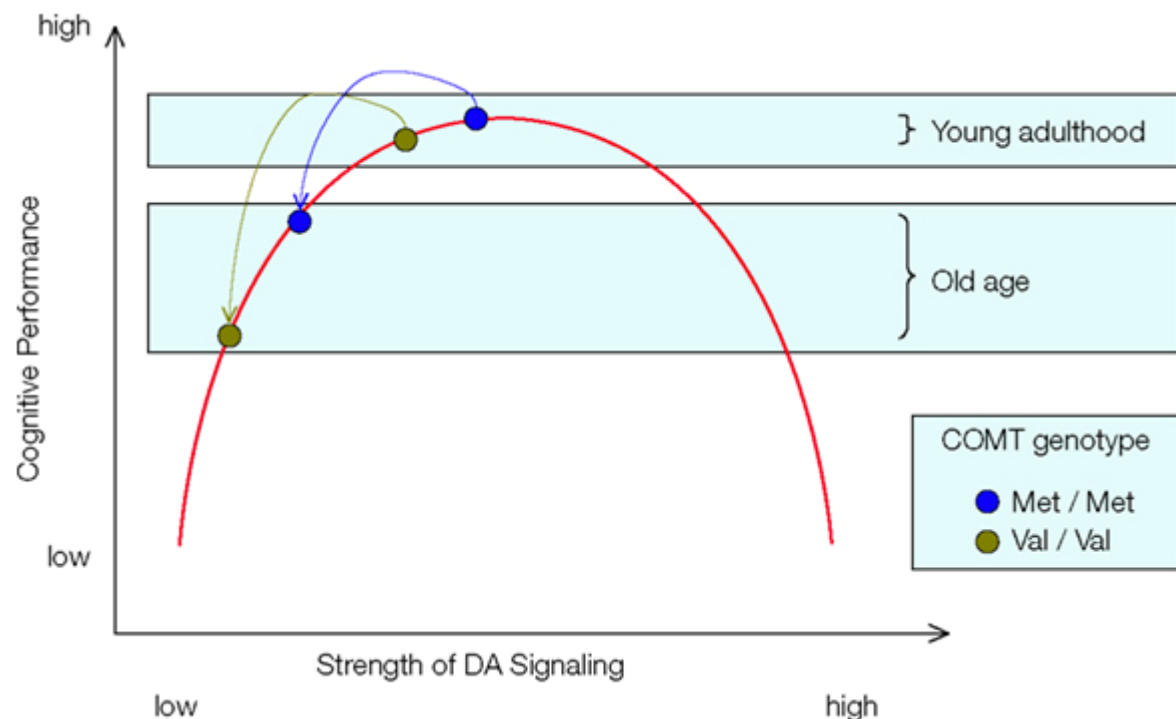


Εικόνα 20.

Απεικονίζεται η γραμμική συσχέτιση του COMT Val(108-158)Met πολυμορφισμού και της διαδικασίας επεξεργασίας πληροφοριών στον προμετωπιαίο φλοιό κατά την διάρκεια εκτέλεσης μίας εργασίας που απαιτεί τη χρήση της εργαζόμενης μνήμης. Ο Met πολυμορφισμός οδηγεί σε σημαντική μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου της COMT, αυξάνοντας την εξωσυναπτική προμετωπιαία ντοπαμίνη. Η ντοπαμίνη αυτή ανταποκρίνεται καλύτερα στα τεστ μνήμης με συνέπεια η ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού στους Met φορείς να είναι μικρότερη αλλά περισσότερο αποτελεσματική, και η οποία προσδιορίζεται με τεχνικές fMR. Οι φορείς του Val αλληλίου συγκρινόμενοι με τους φορείς του Met αλληλίου χρειάζονται μεγαλύτερη ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού για τη δεδομένη εργασία. Η παραπάνω εικόνα δείχνει τη διαφορετική ενεργοποίηση του προμετωπιαίου φλοιού ανάλογα με το γονότυπο. BOLD=blood oxygen dependent. (Meyer-Lindenberg A, et al. 2006)¹⁶⁵

Οι Frias et al.^{166,167} διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ του COMT πολυμορφισμού και της εξασθένησης της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού με την πρόοδο της ηλικίας. Οι συγγραφείς μελέτησαν υγιείς εθελοντές ηλικίας 35-85 ετών σε ένα χρονικό διάστημα 5 ετών, και διαπίστωσαν μεγαλύτερη εξασθένηση στα τεστ εκτέλεσης επιτελικών διεργασιών στους Val φορείς σε σχέση με τους Met ομοζυγώτες. Σε μία

πρόσφατη μελέτη οι Sambatakou et al.¹⁶⁸ χρησιμοποιώντας την απεικονιστική τεχνική fMRI σε νέους και ηλικιωμένους υγιείς εθελοντές διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ του γονιδίου της COMT και των αλλαγών που σχετίζονται με την πρόοδο της ηλικίας στη διαδικασία επεξεργασίας πληροφοριών στον προμετωπιαίο φλοιό. Οι συγγραφείς επιβεβαίωσαν τη σχέση του COMT Val158Met πολυμορφισμού με τη γνωσιακή λειτουργία όχι μόνο στα νεαρά, αλλά και στα μεγαλύτερης ηλικίας άτομα. Επιπλέον παρατήρησαν ότι η γονοτυπική συσχέτιση- η οποία εκφράζεται με μεγαλύτερη δραστηριότητα στον προμετωπιαίο φλοιό για την επιτέλεση μίας συγκεκριμένης εργασίας στην ομάδα ατόμων που φέρουν το Val-Val αλληλόμορφο σε σχέση με την ομάδα ατόμων που είναι φορείς του Met-Met αλληλίου-επιδεινώθηκε πολύ περισσότερο στα ηλικιωμένα άτομα. Η σχετική διαφορά της προμετωπιαίας δραστηριότητας μεταξύ Val-Val και Met-Met στα μεγαλύτερης ηλικίας άτομα είναι πολύ πιο μεγάλη όταν συγκρίνεται με τη σχετική διαφορά Val-Val και Met-Met στα νεαρά άτομα (εικόνα 21).



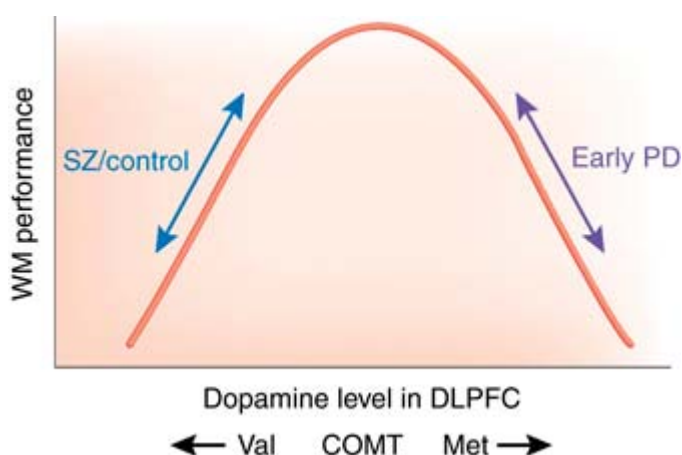
Εικόνα 21.

Συσχετισμός του σήματος της προμετωπιαίας ντοπαμίνης με τη γνωσιακή λειτουργία. Η καμπύλη σχήματος ανάποδου 'U' υποδηλώνει ότι οι διαφορές λειτουργίας μεταξύ Met και Val φορέων του γονιδίου της COMT είναι μεγαλύτερες για τα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, με αποτέλεσμα την εξασθένηση της νευρορρυθμιστικής ικανότητας της ντοπαμίνης με την πρόοδο της ηλικίας. (de Frias C.M., et al. 2005)¹⁶⁸

1.3.4 COMT και γνωσιακή λειτουργία: Ανάλογα με τη κατάσταση του προμετωπιαίου φλοιού

Η υποτιθέμενη ανάποδου ‘U’ σχέση μεταξύ επιπέδων ντοπαμίνης και προμετωπιαίας λειτουργίας δείχνει ότι η σχέση της δράσης της COMT και της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού είναι περισσότερο πολύπλοκη, από το να ορίσουμε ότι « το Met¹⁵⁸ αλληλόμορφο είναι καλό, και το Val¹⁵⁸ αλληλόμορφο είναι κακό ». Το ακριβές αποτέλεσμα της δράσης της COMT πάνω στον προμετωπιαίο φλοιό εξαρτάται σε ποιο σημείο της καμπύλης βρίσκεται το υπό εξέταση άτομο σ’ ένα δεδομένο περιβαλλοντικό και γενετικό υπόβαθρο. Αυτό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα, εάν το άτομο βρίσκεται σε κατάσταση άγχους, διότι είναι γνωστό ότι το στρες επηρεάζει τα επίπεδα της προμετωπιαίας ντοπαμίνης, καθώς επίσης και το γενετικό υπόβαθρο, δηλ. ποιος γονότυπος της COMT εκφράζεται.¹⁶⁹

Αναφέρουμε ως παράδειγμα ασθενείς με Parkinson, οι οποίοι εμφανίζουν διαταραχές της ντοπαμίνης. Σε αυτούς τους ασθενείς όσοι φέρουν το Met¹⁵⁸ αλληλόμορφο παρουσιάζουν μεγαλύτερη διαταραχή της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού σε σχέση με τους Val¹⁵⁸ φορείς.^{170,171} Έτσι φαίνεται ότι ο Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμός εξαρτάται και από άλλους παράγοντες που επίσης επιδρούν στη λειτουργία της ντοπαμίνης (εικόνα 22).



Εικόνα 22.

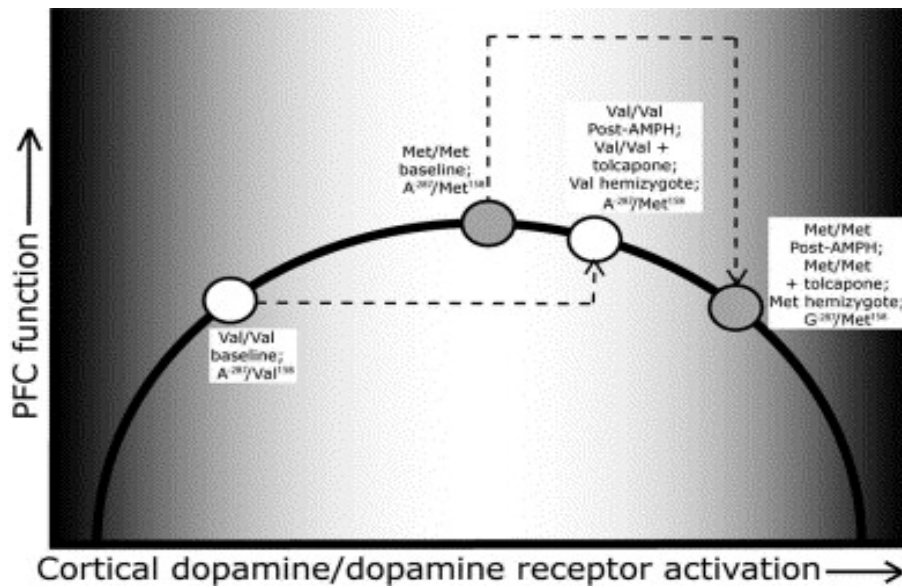
Καμπύλη ανάστροφου ‘U’ μεταξύ εργαζόμενης μνήμης και επιπέδων ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό. Ο COMT met/met γονότυπος αναμένεται να έχει πιο αυξημένα επίπεδα ντοπαμίνης σε σύγκριση με τον val/val γονότυπο. Έτσι ο met/met γονότυπος έχει αντίστροφες συνέπειες στους ασθενείς με πάρκινσον (μεγαλύτερη διαταραχή της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού) σε σχέση με τους ασθενείς με σχιζοφρένεια.

Η θέση των ασθενών με πάρκινσον και σχιζοφρένεια στη καμπύλη διαφέρει. (Williams-Gray CH, et al. 2007)¹⁷²

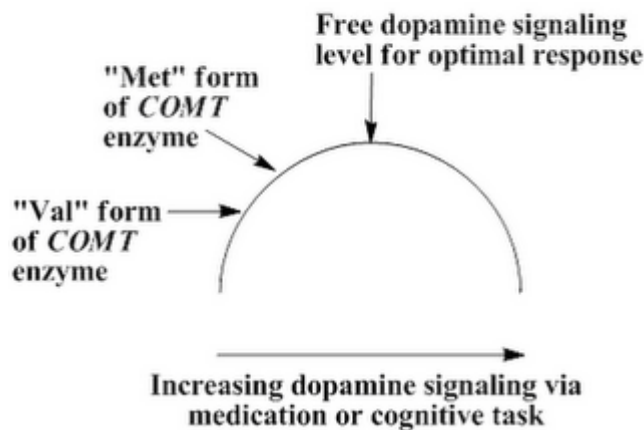
Ένα άλλο παράδειγμα είναι η επίδραση της αμφεταμίνης σε φυσιολογικά άτομα ανάλογα με τον γονότυπο της COMT.

Οι Val¹⁵⁸ομοζυγώτες δείχνουν σημαντική βελτίωση στη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού και καλύτερη ανταπόκριση στα τεστ μνήμης σε σχέση με τους Met¹⁵⁸ομοζυγώτες, των οποίων η λειτουργία ήταν καλύτερη των Val¹⁵⁸φορέων, και οι οποίοι με τη χορήγηση της αμφεταμίνης παρουσιάζουν μειωμένη αποτελεσματικότητα του προμετωπιαίου φλοιού. Αυτό το παράδειγμα εξηγείται με το μοντέλο της καμπύλης του ανάστροφου 'U' (εικόνα 23).

Οι Val¹⁵⁸ομοζυγώτες έχουν χαμηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης, τα οποία αυξάνουν με τη χορήγηση αμφεταμίνης και ερχόμαστε πιο κοντά στην κορυφή της καμπύλης. Ενώ οι Met¹⁵⁸ομοζυγώτες βρίσκονται πιο κοντά στα φυσιολογικά επίπεδα ντοπαμίνης. Με τη χορήγηση αμφεταμίνης αυξάνουν πολύ περισσότερο τα επίπεδα ντοπαμίνης και μετατοπίζονται πολύ δεξιά της καμπύλης, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται από την κορυφή της καμπύλης.¹⁷³



Baseline Levels of Free Dopamine for "Met" and "Val" forms of COMT enzyme



Εικόνα 23.

Η επίδραση της δράσης της COMT στο μοντέλο ανάστροφου 'U' σχέσης ντοπαμίνης και λειτουργίας προμετωπιαίου φλοιού. Η δράση της COMT σε Val¹⁵⁸ ομοζυγώτες έχει σαν αποτέλεσμα χαμηλότερα από το βέλτιστο επίπεδα προμετωπιαίας ντοπαμίνης, ενώ οι Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες είναι πιο κοντά στο βέλτιστο όσο αναφορά τα επίπεδα της προμετωπιαίας ντοπαμίνης. Οι Val¹⁵⁸ ομοζυγώτες μετακινούνται δεξιότερα, πιο κοντά στην κορυφή της ανάστροφής 'U' καμπύλης όταν μειωθεί η δραστηριότητα του COMT ενζύμου (π.χ. με τη χορήγηση tolcapone, αναστολέα της COMT ή με οποιονδήποτε άλλο τρόπο που αυξάνει την μετάδοση της ντοπαμίνης του προμετωπιαίου φλοιού-όπως χορήγηση αμφεταμίνης). Το τελικό αποτέλεσμα είναι βελτίωση της λειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού. Αντίθετα μειωμένη COMT δραστηριότητα ή αυξημένη μετάδοση ντοπαμίνης σε Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες έχει ως αποτέλεσμα πολύ περισσότερα επίπεδα ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό και διαταραγμένη λειτουργία του προμετωπιαίου φλοιού. (Tunbridge EM, et al 2006)¹⁴⁷

Συνεπώς, η άποψη ότι αυξημένη ροή ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό αυξάνει τη λειτουργία του, είναι μία υπερ-απλουστευμένη άποψη. Φαίνεται ότι για να χαρακτηριστεί ο γονότυπος της COMT ωφέλιμος ή επιβλαβής για ένα άτομο, εξαρτάται από παράγοντες που σχετίζονται όχι μόνο με την κατάσταση του προμετωπιαίου φλοιού, αλλά και από τη φύση της εργασίας προς επιτέλεση.

Έτσι το Met¹⁵⁸ αλληλόμορφο, που γενικά θεωρείται ότι είναι καλύτερο όταν χρειάζεται να χρησιμοποιήσουμε την εργαζόμενη μνήμη και να ασχοληθούμε με επιτελικές εργασίες, σχετίζεται με ορισμένες συναισθηματικές διαταραχές, όπως αυξημένη ευαισθησία στον πόνο,¹⁷⁴ έμμο-νο-καταναγκαστική διαταραχή στους άνδρες,¹⁷⁵ αυξημένη ανησυχία στις γυναίκες¹⁷⁶ και διαταραχές πανικού.¹⁷⁷

Επομένως, οι Met¹⁵⁸ φορείς είναι λιγότερο αποτελεσματικοί να εκτιμήσουν σωστά τα συναισθηματικά ερεθίσματα, διότι έχουν δυσκολία να προσδώσουν στην πληροφορία την πραγματική της διάσταση.

1.3.5 Ο ρόλος της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Μια πιθανή υπόθεση για την αιτιολογία της σχιζοφρένειας

Όλα τα μοντέλα διαταραχών του εγκεφάλου που αναφέρθηκαν και θεωρείται ότι οφείλονται σε διαταραχές των επιπέδων των νευροδιαβιβαστών (και συγκεκριμένα του ντοπαμινεργικού συστήματος) παραβλέπουν ένα βασικό χαρακτηριστικό του νευρικού συστήματος, την ικανότητα του συστήματος να αντισταθμίζει με ομοιοστατικό τρόπο τις εκτροπές στα επίπεδα του νευροδιαβιβαστή. Αλλαγές στη σταθεροποιημένη κατάσταση (steady-state) του νευροδιαβιβαστή, μπορεί να οδηγήσουν σε αλλαγές στη σύνθεση του νευροδιαβιβαστή, στην απελευθέρωσή του, στην ευαισθησία των υποδοχέων του και πυροδότηση των νευρώνων, με σκοπό να επανέλθει το σύστημα στην αρχική του σταθεροποιημένη κατάσταση. Συγκεκριμένα, το υποφλοιώδες ντοπαμινεργικό σύστημα θεωρείται ότι διέπεται από ισχυρή ομοιόσταση, γεγονός που φαίνεται από την ικανότητά του ν' αντισταθμίζει ελλείψεις πάνω από 90% ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Αντίστροφα, μειώνει τη δράση του για να εξουδετερώσει μία συσσώρευση υποδοχέων ντοπαμίνης, που προκαλείται από τη επαναλαμβανόμενη χορήγηση αγωνιστών ντοπαμίνης. Επομένως, τα πιθανά μοντέλα αιτιολόγησης των διαταραχών του εγκεφάλου πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τους και την αρχική ανισορροπία του νευροδιαβιβαστή και την διατήρηση αυτής της ανισορροπίας παρουσία των ισχυρών ομοιοστατικών μηχανισμών, που προσπαθούν να την εξουδετερώσουν.

Έτσι, η απελευθέρωση της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα γίνεται με δύο ανεξάρτητους μηχανισμούς, που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.^{178,179,180}

- (1) ένα μηχανισμό παροδικής απελευθέρωσης ντοπαμίνης, στο εξής αποκαλούμενο οξείας φάσης (phasic), που προκαλείται από την ενεργοποίηση ντοπαμινεργικών νευρώνων σε απόκριση σχετικών ερεθισμάτων συμπεριφοράς. Αυτή η μεγάλου-εύρους αλλά σύντομη παλμική απελευθέρωση ντοπαμίνης θεωρείται ότι ενεργοποιεί τους μετασυναπτικούς ντοπαμινεργικούς νευρώνες. Συγχρόνως, απομακρύνεται γρήγορα από τη σύναψη με τη βοήθεια ταχύτατων, χαμηλής συγγένειας / υψηλής ικανότητας συστημάτων επαναπρόσληψης, πριν ενεργοποιήσει τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς.
- (2) ένα μηχανισμό σταθερής, χαμηλής απελευθέρωσης ντοπαμίνης που διατηρεί το τόνο στη σύναψη (tonic). Η απελευθέρωση πραγματοποιείται από τις

ντοπαμινεργικές απολήξεις που ενεργοποιούνται προσυναπτικά, ανεξάρτητα από έντονα ερεθίσματα, αλλά από την απελευθέρωση γλουταμινικού από κεντομόλα νεύρα του προμετωπιαίου φλοιού. Η ντοπαμίνη που απελευθερώνεται με αυτό τον τρόπο θεωρείται ότι αποτελεί το υπόβαθρο, (τη βάση, τη δεξαμενή), και καθορίζει τα επίπεδα σταθεροποιημένης κατάστασης εξωκυτταρικής ντοπαμίνης στις υποφλοιώδεις περιοχές.

Από τη στιγμή που τα επίπεδα της ντοπαμίνης στο εξωκυτταρικό υγρό ρυθμίζουν το βασικό επίπεδο ενεργοποίησης των υποδοχέων της ντοπαμίνης, οποιαδήποτε αλλαγή στην απελευθέρωση της ντοπαμίνης που διατηρεί τον τόνο, θα προκαλούσε ομοιοστατικούς μηχανισμούς που θα προσπαθούσαν να επαναφέρουν την ενεργοποίηση των υποδοχέων ντοπαμίνης στο αρχικό επίπεδο. Έτσι, επηρεάζοντας τα επίπεδα της τονικής ντοπαμίνης και κατά συνέπεια την ενεργοποίηση των ντοπαμινεργικών υποδοχέων, προκαλούμε ομοιοστατικές αλλαγές στην ανταπόκριση του ντοπαμινεργικού συστήματος. Τα προσαγωγά νεύρα του φλοιού και του ραβδωτού σώματος θα αντιδράσουν δυναμικά και θα επηρεάσουν το εύρος της απόκρισης της ντοπαμίνης οξείας φάσης μέσα στις υποφλοιώδεις περιοχές. Με αυτό τον τρόπο, αύξηση στα επίπεδα τονικής ντοπαμίνης θα διεγείρει διαδικασίες που θα αντιστρέψουν την απόκριση στην ντοπαμίνη οξείας φάσης.¹⁸¹

Στους ασθενείς με σχιζοφρένεια, η παθολογική μείωση της δραστηριότητας του προμετωπιαίου φλοιού θεωρείται ότι ευθύνεται για την παρατεταμένη μείωση των επιπέδων της εξωκυτταρικής-τονικής ντοπαμίνης στις κοιλιακές περιοχές του ραβδωτού σώματος και τον επικλινή πυρήνα. Η επακόλουθη ανεπιθύμητη μείωση της διέγερσης των ντοπαμινεργικών υποδοχέων ενεργοποιεί τις διαδικασίες ομοίωσης, για να ενεργοποιηθεί το ντοπαμινεργικό σύστημα (π.χ. μειωμένη αναστολή της σύνθεσης και απελευθέρωσης ντοπαμίνης από τους αυτό-υποδοχείς, αυξημένη δράση της υδροξυλάσης της τυροσίνης, αυξημένο αριθμό μεταυναπτικών ντοπαμινεργικών υποδοχέων κ.λ.π.). Έτσι, στους ασθενείς με σχιζοφρένεια ένα σχετικό ερέθισμα συμπεριφοράς, που πυροδοτεί τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες, προκαλεί μη-φυσιολογική έντονη απόκριση οξείας-φάσης ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα.

Σε αυτή τη βάση, η επαγωγή του ντοπαμινεργικού συστήματος που οδηγεί σε αυξημένη απόκριση της οξείας φάσης ντοπαμίνης στους σχιζοφρενείς ευθύνεται για ένα παράδοξο εύρημα: τα αυξημένα επίπεδα των D2 υποδοχέων στο ραβδωτό σώμα στους σχιζοφρενείς (τα οποία θα έπρεπε να παρατηρηθούν εάν είχαμε μείωση των επιπέδων ντοπαμίνης), παρά τη φαρμακολογική μαρτυρία της υπερ-ντοπαμινεργίας σ’

αυτή τη διαταραχή. Μία ενδιαφέρουσα εξήγηση που δίνει η παραπάνω θεωρία είναι ότι η υποτιθέμενη διαταραχή της ντοπαμίνης δεν αντισταθμίζεται από τους ισχυρούς ομοιοστατικούς μηχανισμούς που διορθώνουν τη λειτουργία του συστήματος. Στην πραγματικότητα, οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί –καθώς προσπαθούν να διατηρήσουν τα επίπεδα της εξωκυτταρικής ντοπαμίνης –είναι υπεύθυνοι, ακόμη περισσότερο, για την διατήρηση της κατάστασης της έντονης απόκρισης στα ερεθίσματα.¹⁷⁸

1.3.6 Ο COMT Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμός και η συσχέτισή του με την ντοπαμίνη του ραβδωτού σώματος

Ο πιθανός ρόλος της COMT στη ρύθμιση της ντοπαμίνης του ραβδωτού σώματος (tonic-phasic DA) μπορεί να είναι πολύ περιορισμένος σε σχέση με άλλους μηχανισμούς καταβολισμού της ντοπαμίνης και απομάκρυνσής της από τις συναπτικές και έξω-συναπτικές περιοχές. Σύμφωνα με το παραπάνω μοντέλο, η μεγάλου εύρους (phasic) ντοπαμίνη που απελευθερώνεται από ερεθίσματα μέσα στις υποφλοιώδεις περιοχές απενεργοποιείται με γρήγορη επαναπρόσληψή της από τον μεταφορέα της ντοπαμίνης (DAT). Αυτή η ντοπαμίνη δεν επηρεάζεται άμεσα από την COMT, διότι η COMT δεν είναι παρούσα στις ντοπαμινεργικές απολήξεις, και θεωρείται ότι παίζει ρόλο κυρίως στον καταβολισμό της έξω-νευρικής ντοπαμίνης στα νευρογλοία /ή στους μετασυναπτικούς νευρώνες.¹⁸² Συμπερασματικά, η COMT παίζει κυρίως ρόλο στη ρύθμιση της ντοπαμίνης από τη στιγμή που αυτή ξεφεύγει από τη συναπτική σχισμή.¹⁸³

Μέσα στις υποφλοιώδεις περιοχές αυτή η διάκριση είναι σημαντική, διότι η χαμηλής απελευθέρωσης ντοπαμίνη, που δεν υπόκειται σε γρήγορη επαναπρόσληψη, θα δραπετεύσει από τη συναπτική σχισμή και θα συμβάλλει στη τονική, εξωκυτταρική δεξαμενή ντοπαμίνης. Αύξηση στην τονική ντοπαμίνη συντελεί στην καταστολή της ντοπαμίνης οξείας φάσης μέσω της δράσης των αυτό-υποδοχέων στις ντοπαμινεργικές απολήξεις.

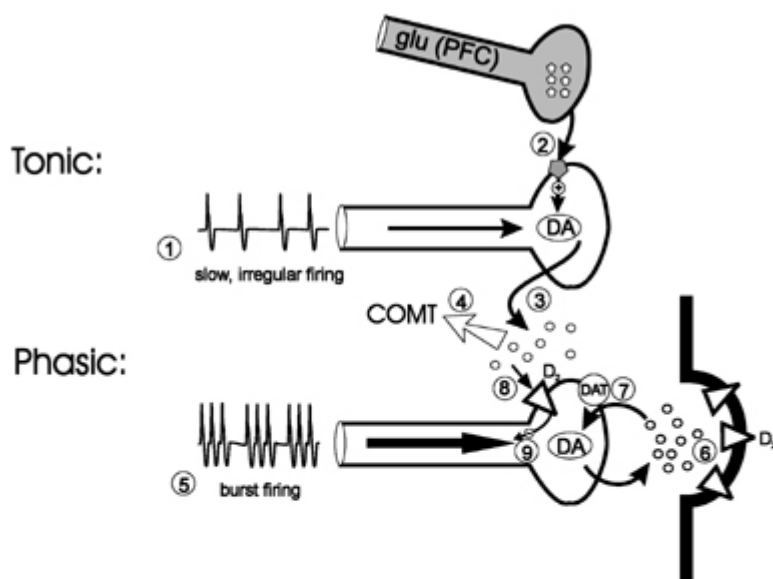
Έτσι, το Val αλληλόμορφο της COMT που σχετίζεται με μεγάλη ενεργότητα του ενζύμου θα μπορούσε να προκαλέσει μία εκλεκτική μείωση της τονικής ντοπαμίνης υποφλοιωδώς, με αυτό τον τρόπο παράγοντας μεγαλύτερη ενεργοποίηση της μετάδοσης της ντοπαμίνης μεγάλου εύρους (phasic). Αντίστροφα, το μικρότερης δραστηριότητας Met αλληλόμορφο της COMT θα μπορούσε να αυξήσει την τονική ντοπαμίνη και να μειώσει την phasic ντοπαμίνη υποφλοιωδώς.¹⁶⁹

Σε αντίθεση, η μετάδοση της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό διέπεται από διαφορετικό ρυθμιστικό μηχανισμό. Υπάρχουν πολύ λιγότεροι μεταφορείς της ντοπαμίνης (DATs) στις ντοπαμινεργικές απολήξεις στον προμετωπιαίο φλοιό,¹⁸⁴ γεγονός που πιθανώς υποδηλώνει την μεγαλύτερη αναλογία ντοπαμίνης στον εξωκυτταρικό χώρο του προμετωπιαίου φλοιού σε σχέση με το ραβδωτό σώμα.¹⁸⁵ Πράγματι, θεωρείται ότι το μεγαλύτερο μέρος της ντοπαμίνης του προμετωπιαίου φλοιού απομακρύνεται με επαναπρόσληψη στις νοραδρενεργικές απολήξεις,¹⁸⁶

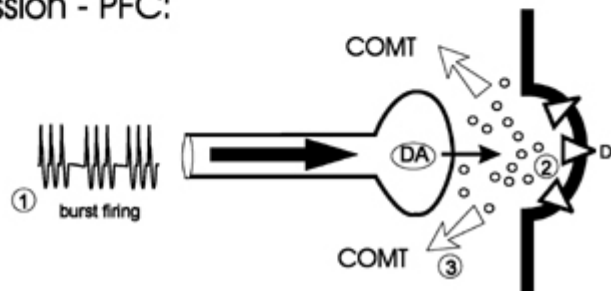
γεγονός που επιτρέπει στην ντοπαμίνη να διαχυθεί σε μεγάλες αποστάσεις πριν απενεργοποιηθεί με αυτή την οδό. Ως αποτέλεσμα, η ντοπαμίνη στον προμετωπιαίο φλοιό είναι ικανή να ασκήσει τη δράση της σε μεγαλύτερες αποστάσεις, δρώντας στους D1 υποδοχείς που βρίσκονται σε εξωσυναπτικές περιοχές.¹⁸⁷ Η COMT μεταβολίζοντας την ντοπαμίνη που έχει διαχυθεί σε μεγάλες αποστάσεις, θεωρείται ότι παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην μετάδοση της ντοπαμίνης μέσα στον προμετωπιαίο φλοιό και ασκεί μεγαλύτερη δράση στους D1 υποδοχείς. Σύμφωνα με τα παραπάνω, περιμένουμε το Val αλληλόμορφο στον προμετωπιαίο φλοιό να μειώνει τη συνολική συγκέντρωση ντοπαμίνης, ενώ το Met αλληλόμορφο την αυξάνει.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η COMT ρυθμίζει την ισοροπία τονικής – παροδικής φάσης ντοπαμίνης υποφλοιωδώς και τη συνολική μετάδοση της ντοπαμίνης στο φλοιό, το αποτέλεσμα του Met αλληλίου θα είναι να αυξήσει τα επίπεδα της τονικής ντοπαμίνης, να μειώσει την απελευθέρωση της παροδικής στις υποφλοιώδεις περιοχές και να αυξήσει τη συνολική συγκέντρωση ντοπαμίνης στο φλοιό, αυξάνοντας έτσι τις λειτουργίες που σχετίζονται με το τονικό ντοπαμινεργικό σύστημα και τη διέγερση των D1 υποδοχέων στο φλοιό. Αντίθετα, το Val αλληλόμορφο αναμένεται να έχει τα αντίθετα αποτελέσματα, αυξάνοντας τη μετάδοση της παροδικής ντοπαμίνης και τη διέγερση των D2 υποδοχέων υποφλοιωδώς, ενώ μειώνει τη μετάδοση της τονικής ντοπαμίνης υποφλοιωδώς και μειώνει τη συνολική συγκέντρωση ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό, μειώνοντας επίσης την φλοιϊκή D1 νευρομεταβίβαση. Όλα τα παραπάνω φαίνονται σχηματικά στις κάτωθι εικόνες 24 και 25.

Tonic/Phasic DA Transmission - nucleus accumbens:



DA Transmission - PFC:



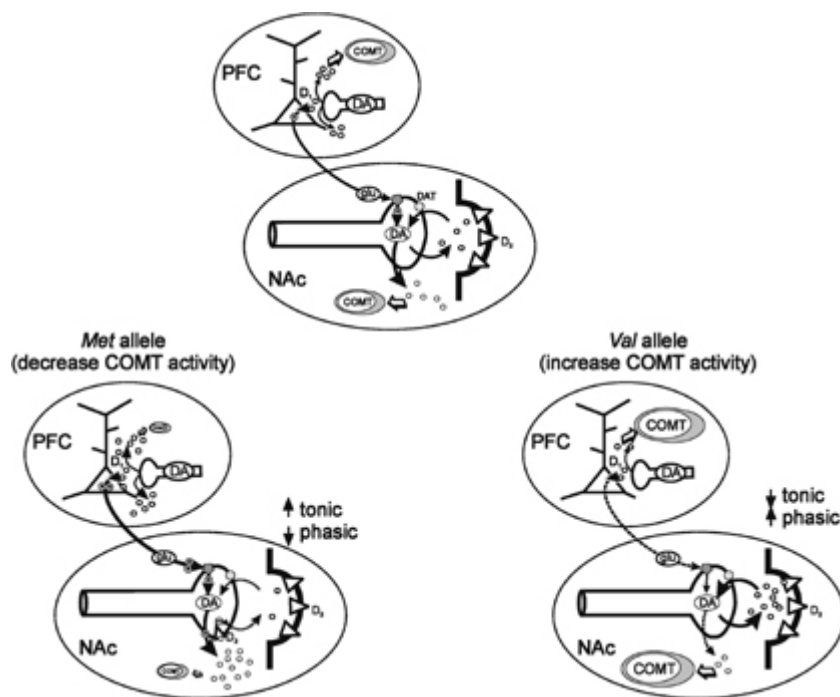
Εικόνα 24.

Τονική-παροδικής φάσης ρύθμιση της ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα (nucleus accumbens) και στον προμετωπιαίο φλοιό(PFC). (Bilder RM, et al 2004)¹⁶⁹

Στο επάνω μέρος της εικόνας 24: στον επικλινή πυρήνα τα σταθερά χαμηλά επίπεδα εξωκυτταρικής ντοπαμίνης ονομάζονται τονική ντοπαμίνη. Η απελευθέρωση της τονικής ντοπαμίνης εξαρτάται από την αργή δράση των ντοπαμινεργικών νευρώνων της κοιλιακής καλύπτρας (1) και ρυθμίζεται από γλουταμινεργικούς κεντρομόλους νευρώνες όπως αυτοί του προμετωπιαίου φλοιού (2). Αυτό έχει ως συνέπεια την απελευθέρωση χαμηλών επιπέδων ντοπαμίνης (της τάξεως των 5-20nM) στον έξω-συναπτικό χώρο (3), όπου υπόκεινται στο μεταβολισμό της COMT (4). Σε αντίθεση η μετάδοση της ντοπαμίνης παροδικής φάσης (phasic) θεωρείται ότι έχει να κάνει με ερεθίσματα, όπως της ανταμοιβής. Αυτή η μετάδοση ενεργοποιείται από την έντονη πυροδότηση νευρώνων της κοιλιακής καλύπτρας (5), οι οποίοι απελευθερώνουν υψηλά επίπεδα ντοπαμίνης στη συναπτική σχισμή (της τάξεως των μM) και

ενεργοποιούνται οι μετασυναπτικοί D2-υποδοχείς (6). Η ντοπαμίνη οξείας φάσεως απενεργοποιείται με γρήγορη επαναπρόσληψη από τον DAT (7) πριν ξεφύγει από συναπτική σχισμή, έτσι ο μεταβολισμός της δεν εξαρτάται από το εξωκυτταρικό ένζυμο COMT. Αν και η τονική ντοπαμίνη είναι σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις για να μπορέσει να διεγείρει τους ενδοσυναπτικούς D2 –υποδοχείς, είναι σε επαρκείς συγκεντρώσεις για να διεγείρει τους προσυναπτικούς D2- αυτουποδοχείς που βρίσκονται στις ντοπαμινεργικές απολήξεις (8), οι οποίοι με τη σειρά τους αναστέλλουν την ντοπαμίνη οξείας φάσεως (9). Έτσι, τα επίπεδα τονικής ντοπαμίνης, τα οποία εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση προσυναπτικής γλουταμινεργικής διέγερσης και μεταβολισμού της COMT, μειώνουν με τη σειρά τους την απελευθέρωση της ντοπαμίνης οξείας φάσεως.

Στο κάτω μέρος της εικόνας 24, η ρύθμιση της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό είναι τελείως διαφορετική. Η πυροδότηση των ντοπαμινεργικών νευρώνων της κοιλιακής καλύπτρας (1) οδηγεί στην απελευθέρωση υψηλών συγκεντρώσεων ντοπαμίνης στη συναπτική σχισμή (2). Όμως, είναι γνωστό ότι οι μεσοφλοιώδεις ντοπαμινεργικοί νευρώνες δεν περιέχουν υψηλά επίπεδα DAT, έτσι η μετάδοση της ντοπαμίνης φάσεως δεν περιορίζεται στη συναπτική σχισμή, αντιθέτως είναι ελεύθερη να διαχυθεί πέρα από τη συναπτική σχισμή, και να διεγείρει τις εγγύς μετασυναπτικές περιοχές. Έτσι, στον προμετωπιαίο φλοιό ο ρόλος της COMT είναι πολύ σημαντικός στη απενεργοποίηση της ντοπαμίνης μετά την απελευθέρωσή της.



Εικόνα 25.

Διαφορετικός ρόλος της COMT στη μεταβίβαση της ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα και στον προμετωπιαίο φλοιό. (Bilder RM, et al 2004)¹⁶⁹

Στο άνω μέρος της εικόνας 25 η ντοπαμίνη απελευθερώνεται από τις ντοπαμινεργικές απολήξεις στον προμετωπιαίο φλοιό και διεγείρει τους μετασυναπτικούς D1- υποδοχείς στους πυραμιδικούς νευρώνες και ασκεί διεγερτικό αποτέλεσμα στην πυροδότηση των νευρώνων. Η ικανότητα της ντοπαμίνης να διεγείρει τους προμετωπιαίους νευρώνες περιορίζεται από τη δραστηριότητα της COMT να μεταβολίζει την ντοπαμίνη. Αυξημένη δραστηριότητα στους πυραμιδικούς νευρώνες του προμετωπιαίου φλοιού αυξάνει την απελευθέρωση γλουταμινικού στον επικλινή πυρήνα, όπου διεγείρει τους προσυναπτικούς υποδοχείς των ντοπαμινεργικών απολήξεων να απελευθερώσουν τονική ντοπαμίνη. Η τονική ντοπαμίνη διεγείρει τους αυτο-υποδοχείς των ντοπαμινεργικών απολήξεων να μειώσουν την ντοπαμίνη παροδικής φάσεως. Στο κάτω μέρος της εικόνας 25 αριστερά, η παρουσία του Met αλληλόμορφου της COMT μειώνει τη όλη δραστηριότητα, με συνέπεια μικρότερο ποσοστό μεταβολισμού ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό, μεγαλύτερη διέγερση των πυραμιδικών νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού και μεγαλύτερη μετάδοση γλουταμινικού και ενεργοποίηση της απελευθέρωσης τονικής ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα και πιθανή

κατασταλμένη απάντηση στην ντοπαμίνη οξείας φάσεως. Στο κάτω δεξιό μέρος της εικόνας 25, η παρουσία του Val αλληλόμορφου της COMT αυξάνει το μεταβολισμό της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό, περιορίζει την ενεργοποίηση των πυραμιδικών νευρώνων μέσω των D1-υποδοχέων. Έτσι μειώνεται η απελευθέρωση τονικής ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα μέσω του γλουταμινικού, με συνέπεια να παρατηρείται μη-φυσιολογική αυξημένη αντίδραση ντοπαμίνης οξείας φάσεως.

1.3.7 Κατάσταση σταθερότητας και πλαστικότητας του προμετωπιαίου φλοιού

Η διατήρηση της κατάστασης ενεργοποίησης του προμετωπιαίου φλοιού εξαρτάται από την ενεργοποίηση των D1-υποδοχέων και τη μετάδοση της τονικής ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα, και αναφέρεται ως **σταθερότητα της κατάστασης ενεργοποίησης**. Σε αντίθεση, η ντοπαμίνη παροδικής-οξείας φάσεως (κυρίως με τη μεσολάβηση της λειτουργίας των D2 υποδοχέων) ασκεί συμπληρωματικό ρόλο ενισχύοντας την **πλαστικότητα** της κατάστασης ενεργοποίησης. Με τον τρόπο αυτό αναστέλλει την παρατεταμένη δραστηριότητα των νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού και βοηθάει τη μετάβαση σε διαφορετικές καταστάσεις ενεργοποίησης.

Η λειτουργία της τονικής ντοπαμίνης είναι συμπληρωματική της λειτουργίας της ντοπαμίνης οξείας φάσης. Και η διέγερση των D2 είναι αντίστροφη της διέγερσης των D1- υποδοχέων. Για παράδειγμα, η ντοπαμίνη προκαλεί μία διφασική απόκριση στα πυραμιδικά κύτταρα του προμετωπιαίου φλοιού: D2/D4 διέγερση παράγει μία ενεργοποίηση των ανασταλτικών ενδονευρώνων, αναστέλλοντας τους πυραμιδικούς νευρώνες.¹⁸⁸ Σε αντίθεση διέγερση των D1 διευκολύνει και παρατείνει τη διατήρηση της ενεργοποιημένης κατάστασης στους πυραμιδικούς νευρώνες.¹⁸⁹ Επιπλέον, η διέγερση των D1 μπορεί επίσης να αυξάνει την GABAνεργική μετάδοση.

Σύμφωνα λοιπόν με αυτό το μοντέλο, η παρατεταμένη D1-τονική ενεργοποίηση βοηθάει να διατηρηθεί μία σταθερότητα στο νευρικό δίκτυο αποφεύγοντας μη ελεγχόμενες, στιγμιαίες αλλαγές σε άλλες υψηλές καταστάσεις ενεργοποίησης.¹⁹⁰ Με άλλα λόγια, η D1 ενεργοποίηση αυξάνει την ουδό που πρέπει να ξεπεραστεί για να μεταβεί το σύστημα από μία κατάσταση υψηλής ενεργοποίησης σε μία άλλη. Με τον τρόπο αυτό το συνολικό νευρικό δίκτυο τείνει να παραμείνει σε μία συγκεκριμένη κατάσταση παρόλο το 'θόρυβο', δηλαδή, παρόλο που δέχεται επιπλέον προσλαμβάνουσες.¹⁹¹

Σε αντίθεση τα αποτελέσματα της D2 ενεργοποίησης και απελευθέρωσης phasic ντοπαμίνης είναι πρόσκαιρα (της τάξεως των εκατοντάδων χιλιοστών του δευτερολέπτου) και έχουν συσχετιστεί με την ικανότητα ανανέωσης, αναπροσαρμογής και συλλογής νέων πληροφοριών στο νευρικό δίκτυο, του οποίου την κατάσταση ενεργοποίησης μπορούν να μεταβάλουν με βάση τις νέες προσλαμβάνουσες.¹⁹²

Είναι πολύ σημαντικό να μπορέσουμε να συνδέσουμε αυτές τις ιδιότητες του νευρικού δικτύου με γνωσιακές και λειτουργίες συμπεριφοράς. Έτσι, λοιπόν η

σταθερότητα των καταστάσεων ενεργοποίησης των νευρώνων του προμετωπιαίου φλοιού σχετίζεται με την ικανότητα να διατηρούμε γνωσιακές πληροφορίες στην εργαζόμενη μνήμη (π.χ. κατά τη διάρκεια μίας εργασίας, όπου μία συγκεκριμένη διαδικασία πρέπει να διατηρείται στη μνήμη).¹⁹³ Αντίθετα, η πλαστικότητα του νευρικού δικτύου υπογραμμίζει την ικανότητα να ανανέωσης ή να αντικατάστασης του περιεχομένου της εργαζόμενης μνήμης (π.χ. αντικατάσταση μίας συγκεκριμένης γνωσιακής διαδικασίας με μία καινούργια πληροφορία), και έτσι γίνεται σχεδιασμός καινούργιων πλάνων ή αλλαγή των ήδη υπάρχοντων όταν υπάρχει απόκλιση από το επιθυμητό αποτέλεσμα.^{194,195}

Όλα τα παραπάνω μοντέλα στηρίζονται στην άποψη, ότι συγκεκριμένοι μηχανισμοί υποστηρίζουν την ικανότητα του συστήματος να διατηρεί μία επιλεγμένη κατάσταση ενεργοποίησης του εγκεφάλου, όταν αυτή είναι επωφελής, και να διακόπτει αυτή την κατάσταση και να ενθαρρύνει αντικατάστασή της από μία καινούργια, καταλληλότερη όταν το απαιτούν οι περιβαλλοντικές συνθήκες. Αυτά τα μοντέλα βοηθούν στην κατανόηση πολλών διαταραχών συμπεριλαμβανομένης και της σχιζοφρένειας.¹⁹⁶ Ο φλοιός, το μεταιχμιακό σύστημα και το ραβδωτό σώμα συνεργάζονται για να πραγματοποιηθούν αυτές οι πολύπλοκες διαδικασίες, και η απελευθέρωση τονικής και οξείας φάσεως ντοπαμίνη παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας και της πλαστικότητας της γνωσιακής λειτουργίας .

Συνεπώς, τα αλληλόμορφα του COMT πολυμορφισμού Met και Val λειτουργούν αντίστοιχα για να αυξήσουν τη σταθερότητα και πλαστικότητα των καταστάσεων ενεργοποίησης του νευρικού δικτύου. Έτσι, επιτυγχάνεται η διατήρηση, αλλά και η ανανέωση της εργαζόμενης μνήμης / μίας επιτελικής εργασίας.^{197,198,199} Πιο συγκεκριμένα, η δράση του COMT Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμού είναι η ακόλουθη :

1. Το Val αλληλόμορφο, που σχετίζεται με αυξημένη δραστηριότητα της COMT, αυξάνει την ντοπαμίνη οξείας φάσεως και μειώνει την απελευθέρωση τονικής ντοπαμίνης υποφλοιωδώς και μειώνει τη συγκέντρωση της ντοπαμίνης στο φλοιό. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της D2 μεταβίβασης και μείωση της D1, με συνέπεια μειωμένη σταθερότητα του νευρικού δικτύου και μειωμένη ικανότητα ανάκλησης παραστάσεων από την εργαζόμενη μνήμη, αλλά ευκολία μετάβασης σε άλλες καταστάσεις, ανανέωση της εργαζόμενης μνήμης και ελαστικότητα συμπεριφοράς.
2. Το Met αλληλόμορφο, που σχετίζεται με χαμηλή δραστηριότητα της COMT, μειώνει την ντοπαμίνη οξείας (παροδικής) φάσεως και αυξάνει τη μετάδοση

της τονικής ντοπαμίνης υποφλοιωδώς και αυξάνει τις συγκεντρώσεις της ντοπαμίνης στο φλοιό. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη D1 και μειωμένη D2 μεταβίβαση στο προμετωπιαίο φλοιό, με συνέπεια αυξημένη σταθερότητα του νευρικού δικτύου, ικανότητα ανάκλησης παραστάσεων από την εργαζόμενη μνήμη, αλλά δυσκολία αλλαγής από μία συγκεκριμένη δραστηριότητα και δυσκολία προσαρμογής και ανανέωσης.

Ο ρόλος του COMT Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμού περιγράφεται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα 2.

Πίνακας 2.

Θεωρητικά αποτελέσματα του COMT πολυμορφισμού στο νευρικό δυναμικό και στο φαινότυπο της σχιζοφρένειας

COMT Val/Met πολυμορφικά αλληλόμορφα

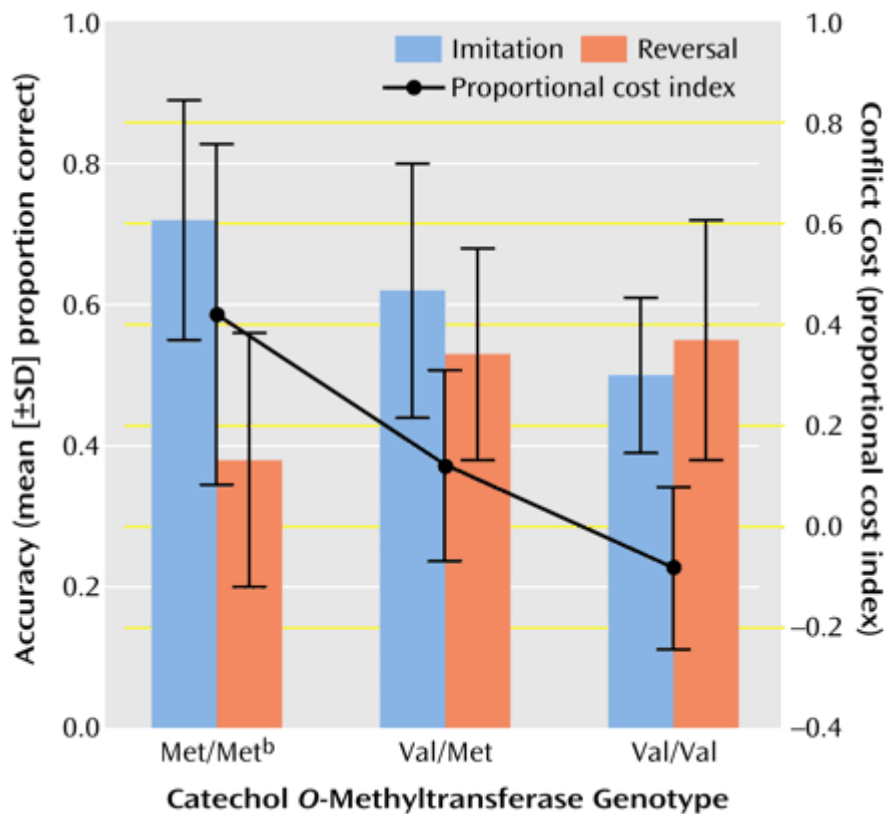
<u>Δράση σε</u>	<u>Met</u>	<u>Val</u>
COMT (ενεργότητα ενζύμου)	Χαμηλή δράση	Υψηλή δράση
Συναπτική μετάδοση ντοπαμίνης / μοντέλο τονικής-παροδικής φάσης ντοπαμίνη	↑τονική ντοπαμίνη (έξωνευρικά) και ↓ντοπαμίνη phasic στη σύναψη υποφλοιωδώς, ↑ντοπαμίνη στο φλοιό	↓τονική ντοπαμίνη (έξωνευρικά) και ↑phasic ντοπαμίνη στη σύναψη υποφλοιωδώς, ↓ντοπαμίνη στο φλοιό
Λειτουργία εργαζόμενης μνήμης	↑D1 μετάδοση, ↑διατήρηση των λειτουργιών της εργαζόμενης μνήμης	↑D2 μετάδοση, ↑ικανότητα της εργαζόμενης μνήμης να ανανεώνεται και να αλλάζει
Γνωσιακή λειτουργία	Προτέρημα σε λειτουργίες που απαιτούν σταθερότητα, αλλά δυσκολία στην ανανέωση ή εναλλαγή	Προτέρημα για λειτουργίες που απαιτούν ελαστικότητα, αλλά στερούνται σταθερότητας (μη συγκέντρωση σε μία εργασία, ↑διάσπαση της προσοχής, έλλειψη συνοχής)
Συμπτώματα σχιζοφρένειας	Περισσότερα αρνητικά συμπτώματα-πιο συχνά σε χρόνια νοσηλευόμενους ασθενείς	Περισσότερα θετικά συμπτώματα-συνήθως οι ασθενείς εντοπίζονται στην κοινότητα
Ρόλος στη θεραπεία της σχιζοφρένειας	Φτωχή ανταπόκριση στους συμβατικούς D2-αποκλειστές, ίσως καλύτερη απόκριση στους D1-αγωνιστές, μερικούς αγωνιστές, ή σε παράγοντες που αυξάνουν τη D1-μεταβίβαση	Καλύτερη απόκριση στους συμβατικούς D2-αποκλειστές, ίσως είναι χρήσιμοι οι αναστολείς της COMT

1.3.8 Φαινοτυπική συσχέτιση του πολυμορφισμού COMT Val158Met και γνωσιακής λειτουργίας

Δεδομένου του σημαντικού ρόλου που παίζουν οι κατεχολαμίνες στη γνωσιακή λειτουργία, τροποποίηση της δράσης της COMT αναμένεται να μεταβάλλει τη γνωσιακή λειτουργία. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο αναστολέας της COMT τολκαπρόνη βελτιώνει βλάβες στην εργαζόμενη μνήμη που έχουν προκληθεί από φάρμακα σε πειραματόζωα,¹⁵⁶ καθώς και τη γνωσιακή λειτουργία ασθενών με Πάρκινσον.²⁰⁰ Αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να ερμηνευτούν ως αύξηση της τονικής ντοπαμίνης σε περιπτώσεις όπου η διαθεσιμότητά της είναι μικρή, είτε έχει προκληθεί με τη χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών, είτε λόγω ασθένειας.

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για να προσδιορίσουν τη σχέση του γονότυπου της COMT με τις γνωσιακές ικανότητες υγιών ατόμων ή ατόμων με σχιζοφρένεια.^{198,111,164} Οι περισσότερες μελέτες δεν έχουν σχεδιαστεί ώστε να ξεχωρίζουν τη σταθερότητα από την πλαστικότητα της σκέψης, αλλά εκτιμούν συνολικά τη γνωσιακή λειτουργία που σχετίζεται με τον προμετωπιαίο φλοιό.

Οι Nolan και οι συνεργάτες του (2004)¹⁹⁸ θέλησαν να μελετήσουν τη διαφορετική επίδραση του Val και Met αλληλίου στην σταθερότητα και πλαστικότητα της γνωσιακής λειτουργίας. Χρησιμοποίησαν λοιπόν ένα πρόγραμμα στον υπολογιστή, το οποίο απαιτούσε την εναλλαγή μεταξύ μίμησης (imitation) και αναστροφής (reversal). Η ικανότητα μάθησης και διατήρησης της μίμησης προϋποθέτει γνωσιακή σταθερότητα και πλαστικότητα, ενώ απαιτείται γνωσιακή πλαστικότητα για να αντιστρέψει κάποιος τους κανόνες στην ανάποδη κατάσταση. Συγκεκριμένα, ζητήθηκε από ασθενείς με σχιζοφρένεια να πατήσουν μία ή δύο φορές ένα κουμπί στον υπολογιστή, ανάλογα εάν ακούσουν ένα ηχητικό σήμα μία ή δύο φορές. Στη συνέχεια τους ζητήθηκε να πατήσουν το κουμπί αντίστροφα μία φορά για δύο σήματα και δύο φορές για ένα σήμα. Και οι κανόνες άλλαζαν συνέχεια χωρίς προειδοποίηση. Οι Met ομοζυγώτες παρουσίασαν μεγαλύτερη ακρίβεια στη διαδικασία μίμησης, αλλά όχι στη διαδικασία αναστροφής, και εμφανίζουν μεγαλύτερη δυσκολία στο να προσαρμοστούν όταν αντιστράφηκαν οι κανόνες (εικόνα 26).



Εικόνα 26.

Το παραπάνω διάγραμμα απεικονίζει την ακρίβεια και τη δυσκολία αναστροφής των κανόνων ανάλογα με τον COMT γονότυπο σε ασθενείς με σχιζοφρένεια κατά την εκτέλεση ενός τεστ για τον προσδιορισμό της γνωσιακής σταθερότητας και πλαστικότητας.¹⁹⁸ (Nolan et al 2004)

Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σύμφωνα με τη υπόθεση ότι τα άτομα που φέρουν το Met αλληλόμορφο αυξάνουν τη δράση της τονικής ντοπαμίνης, η οποία ευνοεί τη γνωσιακή σταθερότητα, αλλά υπολείπεται στην ικανότητα προσαρμογής όταν αλλάζουν οι συνθήκες. Η παραπάνω υπόθεση εξηγεί το γεγονός ότι τα άτομα που φέρουν το Met αλληλόμορφο παρουσιάζουν καλύτερη γνωσιακή λειτουργία, αλλά αυξημένη επιθετικότητα, διότι δεν μπορούν να προσαρμόσουν τη συμπεριφορά τους στα νέα δεδομένα.

1.3.9 COMT Val158Met πολυμορφισμός και ψυχωσικές διαταραχές

Σύμφωνα με την αρχική υπόθεση της ντοπαμίνης, η οποία αναφέρει αυξημένη δραστηριότητα ντοπαμίνης στον εγκέφαλο, η υψηλή δραστηριότητα της COMT θα έπρεπε να ασκεί προστατευτική δράση, διότι μειώνει το ποσό της ντοπαμίνης ως νευροδιαβιβαστή. Αυτή η υπόθεση φαίνεται να είναι συμβατή με την παρουσία σχιζοφρενικών συμπτωμάτων σε ασθενείς με μικρο-αφαιρέσεις στο χρωμόσωμα 22q11, το οποίο εμπεριέχει το γονίδιο της COMT. Πράγματι, μία πρόσφατη μετα-ανάλυση, μελέτη ανάλυσης-σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος ανέφερε το χρωμόσωμα 22q ως μία περιοχή που εξακολουθεί να είναι υποψήφια να περιλαμβάνει κάποιο γονίδιο που συσχετίζεται με τη σχιζοφρένεια.²⁰¹ Έτσι, σύμφωνα με την παραπάνω θεωρία θα έπρεπε το Met αλληλόμορφο να αυξάνει την επιρρέπεια στη σχιζοφρένεια. Η νεώτερη θεωρία για τη σχιζοφρένεια υποθέτει, αντιθέτως, κατάσταση υποντοπαμινεργίας στον προμετωπιαίο φλοιό (η οποία σχετίζεται με τα αρνητικά συμπτώματα και γνωσιακές διαταραχές) και διαταραγμένη ντοπαμινεργική κατάσταση υποφλοιωδώς (η οποία πιθανώς σχετίζεται με τα θετικά συμπτώματα).²⁰² Η προμετωπιαία υποντοπαμινεργία μπορεί να οφείλεται, εν μέρει, σε αυξημένο καταβολισμό της ντοπαμίνης από μία πιο ενεργή μορφή του ενζύμου της COMT. Έτσι, οι Weinberger et al. συμπεραίνουν ότι το Val αλληλόμορφο θα μπορούσε να αυξήσει την επιρρέπεια στη σχιζοφρένεια.²⁰²

Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 μελετών συσχέτισης ασθενών-μαρτύρων και 5 μελετών σε οικογένειες με περιστατικά σχιζοφρένειας, η σύνδεση του Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμού της COMT με το φαινότυπο της σχιζοφρένειας φαίνεται να είναι διφορούμενη, παρόλο που οι συγγραφείς αναφέρουν ότι το Val αλληλόμορφο ίσως προσδίδει μικρό κίνδυνο για εμφάνιση της ασθένειας, κυρίως στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό.²⁰³ Σε αυτή τη μετα-ανάλυση δε συμπεριλαμβάνεται η μεγάλη μελέτη ασθενών-μαρτύρων στον Εβραϊκό πληθυσμό Εσκενάζυ που έδειξε να υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του COMT γονιδίου με τη σχιζοφρένεια, και μάλιστα η συσχέτιση δύο γειτονικών SNPs (των rs737865 και rs165599) είναι πολύ μεγαλύτερη από ότι αυτή του Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμού.²⁰⁴ Οι συγγραφείς της μετα-ανάλυσης αναγνωρίζουν ότι η ετερογένεια των φαινοτύπων της σχιζοφρένειας μπορεί να ευθύνεται για τις αντιφάσεις-ασυμφωνίες μεταξύ των διαφόρων μελετών και για τα αποκλίνοντα αποτελέσματα μεταξύ μελετών ασθενών-μαρτύρων και μελετών που αφορούν οικογένειες. Πιο συγκεκριμένα, οι μελέτες που αναφέρονται σε οικογένειες

με περιστατικά σχιζοφρένειας προδιαθέτουν να συμπεριλάβουν στη μελέτη ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα κοινωνικής υποστήριξης και συμμετοχής ή με λιγότερο σοβαρή παθογένεια. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι, οι μελέτες που βρίσκουν αύξηση του Met αλληλίου ανάμεσα στους ασθενείς, περιλαμβάνουν κυρίως ασθενείς που προέρχονται από κάποιο νοσηλευτικό ίδρυμα,^{205,206} ενώ εκείνες οι μελέτες που αναφέρουν ισχυρότερη συσχέτιση του Val αλληλίου έχουν συλλέξει τους ασθενείς τους κυρίως από την κοινότητα.^{111,207} Η παραπάνω υπόθεση υποστηρίζει ότι η πιο σοβαρή / χρόνια σχιζοφρένεια σχετίζεται με το Met αλληλόμορφο,²⁰⁸ παρά το γεγονός ότι το Met αλληλόμορφο έχει καλύτερη απόκριση στα γνωσιακά τεστ,¹⁹⁷ ενώ ηπιότερες μορφές της ασθένειας σχετίζονται με το Val αλληλόμορφο. Επίσης, οι ασθενείς που φέρουν το Met αλληλόμορφο παρουσιάζουν αντίσταση στη θεραπεία.^{209,210}

Σύμφωνα με το μοντέλο της τονικής-παροδικής φάσης ντοπαμίνης, ο φαινότυπος της σχιζοφρένειας εξαρτάται από διαταραχές στη μετάδοση της τονικής ή της παροδικής φάσης ντοπαμίνης.

Αυξημένη μετάδοση τονικής ντοπαμίνης προσδίδει αυξημένη σταθερότητα της ενεργοποιημένης κατάστασης του νευρικού συστήματος, ακαμψία της γνωσιακής λειτουργίας και εμμονή στα συμπτώματα που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με τους συμβατικούς αντιψυχωσικούς παράγοντες, και αυξημένα αρνητικά συμπτώματα. Αυξημένη μετάδοση της ντοπαμίνης οξείας (παροδικής) φάσης προσδίδει αστάθεια στην ενεργοποιημένη κατάσταση του νευρικού συστήματος, η οποία σχετίζεται με γνωσιακά συμπτώματα, όπως αδυναμία συγκέντρωσης, εύκολη απόσπαση της προσοχής ή αλλαγή σχεδίων, περισσότερα θετικά συμπτώματα και πιο ενεργή μορφή του συνδρόμου της σχιζοφρένειας. Σύμφωνα με το παραπάνω μοντέλο, τα άτομα που φέρουν το Met αλληλόμορφο, το οποίο οδηγεί σε αύξηση της τονικής ντοπαμίνης και μείωσης της ντοπαμίνης παροδικής φάσης, παρουσιάζουν ευαισθησία στο σύνδρομο της σχιζοφρένειας που χαρακτηρίζεται από αρνητικά συμπτώματα και παθολογική ακαμψία. Ενώ, αντίθετα τα άτομα που φέρουν το Val αλληλόμορφο, το οποίο μειώνει την τονική ντοπαμίνη και αυξάνει την ντοπαμίνη παροδικής φάσης, παρουσιάζουν ευαισθησία στη μορφή του συνδρόμου που χαρακτηρίζεται από θετικά συμπτώματα, έντονη αποδιοργάνωση και υπερβολική αντίδραση σε συνήθως ακίνδυνα και αβλαβή ερεθίσματα.²¹¹

Με βάση το συλλογισμό, ότι οι D1 υποδοχείς παίζουν σημαντικότερο ρόλο στη ρύθμιση της τονικής ντοπαμίνης και οι D2 υποδοχείς στην ντοπαμίνη παροδικής

φάσεως στις υποφλοιώδεις περιοχές και στον προμετωπιαίο φλοιό, είναι πιθανόν οι ασθενείς που φέρουν το Val αλληλόμορφο ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπεία με D2 ανταγωνιστές, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με ασθενείς που φέρουν το Met αλληλόμορφο.^{209,210} Επιπλέον μπορούμε να υποθέσουμε ότι αναστολείς της COMT όπως η τολκαρόνη μπορεί να έχει ευεργετικά αποτελέσματα κυρίως σε άτομα με υψηλότερη δραστηριότητα της COMT (Val ομοζυγώτες). Ενώ, άτομα που φέρουν το Met αλληλόμορφο μπορούν να θεραπευτούν καλύτερα με D1 αγωνιστές ή με ουσίες που σταθεροποιούν το ντοπαμινεργικό σύστημα.²¹²

1.3.10 Φυλετικές επιδράσεις στο γονίδιο της COMT

Το φύλο είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις νευροεπιστήμες.²¹³ Πολλοί παράμετροι της λειτουργίας και δομής του εγκεφάλου διαφέρουν μεταξύ ανδρών και γυναικών²¹⁴ και οι περισσότερες ψυχιατρικές διαταραχές παρουσιάζουν διαφορές ανάλογα με το φύλο σε πολλές μεταβλητές όπως επίπτωση, ηλικία έναρξης, κλινικά χαρακτηριστικά και έκβαση.^{215,216,217} Αυτές οι διαφορές αποδίδονται συνήθως στις φυλετικές ορμόνες^{218,219} καθώς και στη δράση γονιδίων που βρίσκονται στα φυλετικά χρωμοσώματα.²²⁰ Επιπλέον, και τα αυτοσωμικά γονίδια συμβάλλουν στο να υπάρχουν φυλετικές διαφορές στην προδιάθεση για την εκδήλωση ψυχιατρικών φαινοτύπων. Για παράδειγμα, οι χρωμοσωμικές περιοχές που εμπλέκονται για την προδιάθεση για μείζονα κατάθλιψη,²²¹ την ψυχακαναγκαστική διαταραχή²²² και τον αυτισμό²²³ διαφέρουν μεταξύ ανδρών και γυναικών. Αυτές οι διαφορές εμφανίζονται και σε συνδυασμό με φυλετικές διαφορές στην κληρονομικότητα για ορισμένες διαταραχές, όπως η μείζονα κατάθλιψη εμφανίζεται περισσότερο συχνά στις γυναίκες παρά στους άνδρες.²²⁴ Παρά τις πολλές μαρτυρίες για φυλετικές διαφορές στη γενετική βάση πολλών ψυχιατρικών ασθενειών ο ρόλος που παίζουν τα συμβαλλόμενα γονίδια παραμένει αδιευκρίνιστος. Η COMT πιθανολογείται ότι είναι ένα τέτοιο γονίδιο. Έτσι, η COMT εκτός από τον ρόλο της στο μεταβολισμό των κατεχολαμινών μεθυλιώνει και τα κατεχολ-οιστρογόνα.

Μία σημαντική νεκροτομική μελέτη από τους Chen et al (2004), στην οποία συμμετείχαν 118 άτομα, έδειξε ότι η δραστηριότητα της COMT στον προμετωπιαίο φλοιό είναι κατά 17% υψηλότερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες (ανεξάρτητα από τον Val158Met πολυμορφισμό ή την παρουσία άλλων SNPs). Είναι ενδιαφέρον ότι έχουμε μεγαλύτερη δραστηριότητα της COMT στους άνδρες, παρόλο που τα επίπεδα της COMT πρωτεΐνης και του mRNA είναι παρόμοια και στα δύο φύλα^{225,143} ή μεγαλύτερα στις γυναίκες.²²⁶ Αυτή η ασυμφωνία μεταξύ έκφρασης και δράσης παραμένει να εξηγηθεί από τον μηχανισμό που οδηγεί σε αυτό το φυλετικό διμορφισμό.

Μία άλλη μαρτυρία για την ύπαρξη φυλετικού διμορφισμού στη λειτουργία της COMT προέρχεται από πειράματα σε ζώα που τους αφαιρέθηκε η COMT.²²⁷ Τα επίπεδα της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό αυξήθηκαν σχεδόν τρεις φορές σε αρσενικά COMT-/- ποντίκια (και δύο φορές σε +/- ποντίκια) σε σχέση με τον άγριο τύπο ποντικίου που δεν έγινε καμία παρέμβαση, επιβεβαιώνοντας έτσι τη σημασία

της COMT για τον μεταβολισμό της φλοιϊκής ντοπαμίνης. Αντίθετα στα θηλυκά COMT+/- και COMT-/- ποντίκια τα επίπεδα της ντοπαμίνης παρέμειναν αμετάβλητα. Η απουσία επίπτωσης του αδεϊασματος της ντοπαμίνης στα θηλυκά ποντίκια, υποδηλώνει την ύπαρξη ειδικών μηχανισμών στα άτομα θηλυκού γένους που αντισταθμίζουν το άδεϊασμα της ντοπαμίνης (όπως ίσως μεγαλύτερη δράση των μεταφορέων ντοπαμίνης ή νορεπινεφρίνης). Παραμένουν να αποδειχθούν όλα αυτά. Αντίθετα, τα θηλυκά και όχι τα αρσενικά ποντίκια που αδεϊάστηκαν από την COMT παρουσίασαν μεγαλύτερη ανησυχία σε σχέση με τον άγριο τύπο ποντικιού.

Μία άλλη μαρτυρία φυλετικού διμορφισμού, αφορά συχνότητες αλληλόμορφων. Στη μεγάλη μελέτη των Εβραίων Εσκενάζυ (4014 άτομα) οι Shifman et al.²⁰⁴ βρήκαν ότι η συχνότητα του A αλληλόμορφου του rs 165599 SNP (που κείται στην 3΄μη-μεταφραζόμενη περιοχή του COMT γονιδίου) είναι μεγαλύτερη στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες. Οι συγγραφείς απέδωσαν αυτή διαφορά στο ότι το G αλληλόμορφο μπορεί να είναι επιβλαβές και μειώνει τη βιωσιμότητα των θηλυκών εμβρύων που το φέρουν. Αυτή η μαρτυρία δεν έχει επαναληφθεί από άλλους ερευνητές. Παρόλα αυτά η σημαντικότητά της παραμένει, διότι δεν έχουν αναφερθεί άλλες μελέτες με τόσο μεγάλο δείγμα πληθυσμού.

1.3.11 Μηχανισμός του φυλετικού διμορφισμού της COMT

Τα οιστρογόνα συνήθως εμπλέκονται για να εξηγηθούν οι φυλετικές διαφορές που σχετίζονται με τη COMT. Ο βιοχημικός Axelrod (1971) που ανακάλυψε την COMT, ανέφερε ότι η χορήγηση 17-β-οιστραδιόλης προκαλούσε μείωση της δράσης της COMT στο ήπαρ ποντικών.²²⁸ Αργότερα οι Xie et al.(1999)²²⁹ έδειξαν ότι υπάρχουν δύο θέσεις απόκρισης στα οιστρογόνα στον εκκινητή της COMT και ότι σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις η 17-β-οιστραδιόλη αναστέλλει την έκφραση του mRNA της COMT σε κύτταρα που εκφράζουν οιστρογονικούς υποδοχείς. Επιπλέον, η βιβλιογραφία αναφέρει ότι η προκαλούμενη από τα οιστρογόνα μείωση του mRNA της COMT συνοδεύεται από μία ανάλογη μείωση της δραστηριότητας της COMT. Αυτή η ανασταλτική ρύθμιση από τα οιστρογόνα είναι σύμφωνη και με την παρατήρηση ότι γυναίκες με υψηλά επίπεδα οιστρογόνων (π.χ. όταν λαμβάνουν από το στόμα αντισυλληπτικά ή βρίσκονται στο 3^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης) έχουν χαμηλότερη δράση της COMT.²³⁰

Συμπληρωματικά, με την οιστρογονική ρύθμιση της COMT, η ίδια η COMT παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των κατεχολ-οιστρογόνων.²³¹ Έτσι οι φορείς του Val158 αλληλόμορφου που έχει τη μεγαλύτερη δράση, μεταβολίζουν καλύτερα τα οιστρογόνα.^{232,233} Το γεγονός αυτό μπορεί να δώσει μία ικανοποιητική εξήγηση για τη συσχέτιση που αναφέρουν κάποιες μελέτες του Met158 αλληλίου με τους οιστρογονικούς καρκίνους.²³³

Συμπερασματικά, υπάρχει μία αμοιβαία αλληλεπίδραση – ο γονότυπος της COMT ρυθμίζει το ρόλο που παίζουν τα οιστρογόνα στην εγκεφαλική λειτουργία και δυσλειτουργία, ενώ τα οιστρογόνα επηρεάζουν τη δράση της COMT και τα παθοφυσιολογικά επακόλουθα που αυτή έχει, επηρεάζοντας την έκφραση του γονιδίου της COMT.²¹⁹

Πέρα από την έμφαση που έχει δοθεί στην οιστρογονική ρύθμιση της έκφρασης του COMT γονιδίου, αυτή μπορεί να εξηγήσει μόνο εν μέρει τους φυλετικούς διμορφισμούς της COMT. Οι Cohn and Axelrod (1971)²²⁸ διατύπωσαν ότι η 17-β-οιστραδιόλη δεν επηρεάζει τη δράση της COMT στον εγκέφαλο, παρά την έντονη μείωση της δράσης στο ήπαρ. Επίσης οι Jiang et al (2003)²³⁴ ανέφεραν οιστρογονική ρύθμιση της COMT σε σειρές καρκινικών κυττάρων του μαστού, αλλά όχι σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος, ενισχύοντας έτσι την άποψη ότι αυτή η σχέση οιστρογόνων-COMT δε χαρακτηρίζει τον εγκέφαλο. Η άποψη ότι η οιστρογονική

ρύθμιση της COMT μπορεί να είναι λιγότερο σημαντική στον εγκέφαλο από ότι είναι στην περιφέρεια υποστηρίζεται και από πρόσφατες μελέτες στον εγκέφαλο που έδειξαν ότι η δράση της COMT είναι μεγαλύτερη στους άνδρες, αν και οι γυναίκες εκφράζουν την COMT στα ίδια ή υψηλότερα επίπεδα.^{225,143} Επιπλέον το γεγονός ότι τα επίπεδα της COMT πρωτεΐνης και της δράσης της αυξάνουν σημαντικά στους άνδρες μεταξύ 3^{ης} και 5^{ης} δεκαετίας της ζωής²³⁵ παρά τα σταθερά επίπεδα οιστραδιόλης στη διάρκεια αυτής της περιόδου,²³⁶ δείχνει ότι τα οιστρογόνα δεν αποτελούν το μοναδικό παράγοντα υπεύθυνο για τη ρύθμιση της COMT στον εγκέφαλο.

Επεκτείνοντας τον ορίζοντα των φυλετικών διμορφισμών της COMT εκτός από τα κατεχολ-οιστρογόνα μπορούμε να αναφερθούμε και στην ντοπαμίνη. Για παράδειγμα σε σύγκριση με τους άνδρες, στις γυναίκες παρατηρείται υψηλότερη πρόσληψη [¹⁸F] fluorodopa, γεγονός που υποδηλώνει μεγαλύτερη προσυναπτική ικανότητα σύνθεσης ντοπαμίνης και άρα υψηλότερα επίπεδα ντοπαμίνης.²³⁷ Επίσης οι γυναίκες παρουσιάζουν λιγότερη απελευθέρωση ντοπαμίνης όταν τους χορηγείται αμφεταμίνη²³⁸ και μεγαλύτερη πρόσληψη μεταφορέων ντοπαμίνης.²³⁹ Έτσι, σε σύγκριση με τους άνδρες οι γυναίκες φαίνεται να έχουν αυξημένη τονική αλλά μειωμένη διεγερμένη ντοπαμίνη στο ραβδωτό σώμα. Στις παραπάνω μελέτες η οιστρογονική κατάσταση δεν έχει ληφθεί υπόψη (φάση του έμμηνου κύκλου), και μπορεί να περιπλέξει ακόμη περισσότερο τα πράγματα.²⁴⁰ Πέρα από το ραβδωτό σώμα, διαφορές στη λειτουργία της ντοπαμίνης ανάλογα με το φύλο, στο φλοιό του εγκεφάλου, όπου η COMT παίζει τον κύριο ρόλο της έχουν λιγότερο μελετηθεί.

Συμπερασματικά, υπάρχουν αντικρουόμενες μελέτες που αναφέρονται σε φυλετικές διαφορές στις ντοπαμινεργικές παραμέτρους.²⁴¹ Δεν είναι ξεκάθαρο, εάν αυτές οι διαφορές οφείλονται σε διαφορές στη λειτουργία του ντοπαμινεργικού συστήματος μεταξύ ανδρών και γυναικών ή πώς αυτός ο φυλετικός ντοπαμινεργικός διμορφισμός συνδυάζεται με την ανάστροφου σχήματος ‘U’ καμπύλη που υπάρχει στη σχέση λειτουργίας της ντοπαμίνης και προμετωπιαίου φλοιού.^{160,173}

1.4 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΜΙΚΡΟΕΛΛΕΙΜΑΤΟΣ 22Q11 Η ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΥΠΕΡΩΙΟ-ΚΑΡΔΙΟ-ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ (VELO-CARDIO-FACIAL SYNDROME) (VCFS)

1.4.1 Περιγραφή, επιδημιολογία και κλινική εικόνα του συνδρόμου

Το σύνδρομο υπερώιο-καρδιο-προσωπικό θεωρείται ότι είναι ένα από τα πιο συχνά σύνδρομα στον άνθρωπο. Προσβάλλει το πρόσωπο, την υπερώα και την καρδιά και οφείλεται σε ένα ημιζυγωτικό μικροέλλειμμα στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 22, q11.2 (εικόνα 27). Το μέγεθος του ελλείμματος είναι μεγάλο και περιλαμβάνει περίπου εκατό γονίδια.²⁴² Πολλαπλά ονόματα έχουν δοθεί σ' αυτό το σύνδρομο, όπως σύνδρομο DiGeorge,²⁴³ σύνδρομο Shprintzen,²⁴⁴ CATCH 22, σύνδρομο ελλείμματος 22. Όλα αντιπροσωπεύουν το ίδιο νόσημα που έχει πολύ μεγάλη ποικιλομορφία στην έκφραση. Πιθανή συχνότητα είναι 1 στις 4000. Επειδή όμως πολλά νεογέννητα λόγω σοβαρής καρδιοπάθειας πεθαίνουν πριν γίνει η διάγνωση του συνδρόμου, η συχνότητά του υπολογίζεται σε 1 στις 2000-4000.²⁴⁵ Τα διαγνωστικά κριτήρια είναι πάρα πολλά (περισσότερα από 180). Κανένα σχεδόν από αυτά δεν εμφανίζεται με συχνότητα 100%, δείχνοντας έτσι ότι δεν υπάρχουν παθογνωμονικά ή υποχρεωτικά κριτήρια.

Τα κυριότερα μείζονα κλινικά συμπτώματα είναι²⁴⁶ :

1. Καρδιαγγειακές ανωμαλίες
2. Υποπλασία θύμου, συχνές λοιμώξεις, ανοσοανεπάρκεια
3. Υποασβεστιαμία
4. Δυσκολίες στη σίτιση
5. Σχιστία χείλους / υπερώας, διαταραχή ομιλίας και άρθρωσης
6. Αναπτυξιακή καθυστέρηση, μαθησιακές δυσκολίες, προβλήματα συμπεριφοράς
7. Διάφορες ανωμαλίες
8. Δυσμορφίες προσώπου

Το υπερώιο-καρδιο-προσωπικό σύνδρομο είναι το δεύτερο πιο συχνό σύνδρομο που συνδυάζεται με την αλληλουχία Pierre-Robin (μικρογναθία, γλωσσόπτωση, σχιστία υπερώας).²⁴⁷ Εάν μαζί με την σχιστία υπερώας και τη συγγενή καρδιοπάθεια συνυπάρχουν και άλλες συγγενείς ανωμαλίες, τότε η διάγνωση είναι σχεδόν βέβαιη. Το υπερώιο-καρδιο-προσωπικό σύνδρομο είναι συνήθως σποραδικό, έχουν αναφερθεί όμως και οικογενείς περιπτώσεις. Γι' αυτό πρέπει να γίνεται έλεγχος και των γονέων.

Οι συχνότερες συγγενείς καρδιοπάθειες που παρατηρούνται στο σύνδρομο είναι: ανωμαλίες αορτικού τόξου, μεσο-κοιλιακή επικοινωνία, ατρησία ή στένωση πνευμονικής αρτηρίας, τετραλογία Fallot και κοινός αρτηριακός κορμός.²⁴⁸ Ανωμαλίες μεγάλων αγγείων όπως αγγειακοί δακτύλιοι ή ανώμαλη έκφυση αριστεράς ή δεξιάς υποκλειδίου αρτηρίας είναι επίσης ενδεικτικά στοιχεία για την διάγνωση του συνδρόμου.

Διαταραχές της ανοσίας συχνά συνυπάρχουν και προκαλούν συχνές αναπνευστικές λοιμώξεις.

Προβλήματα σίτισης είναι πολύ συχνά λόγω της υπάρχουσας γενικευμένης υποτονίας. Η αναγωγή γάλακτος από τη μύτη οφείλεται στην υποτονία, σε υποπλαστική μαλθακή υπερώα και σε εξαιρετικά μεγάλο ρινοφάρυγγα.

Προβλήματα εκπαίδευσης παρατηρούνται σε όλα τα παιδιά με σύνδρομο υπερωιο-καρδιο-προσωπικό.²⁴⁹ Αρχικά παρατηρείται αναπτυξιακή καθυστέρηση και καθυστέρηση του λόγου, αλλά περίπου στην ηλικία των τεσσάρων ετών δείχνουν σαν να «πηγαίνουν μπροστά» και ο δείκτης νοημοσύνης φαίνεται να είναι μέσα στα φυσιολογικά όρια. Στη σχολική, όμως, ηλικία ο δείκτης νοημοσύνης είναι μειωμένος. Έχουν ειδικές μαθησιακές δυσκολίες στα μαθηματικά και στην αναγνωστική ικανότητα. Σε μεγαλύτερη ηλικία τα κύρια συμπτώματα του συνδρόμου όπως η αναπτυξιακή καθυστέρηση, οι διαταραχές συμπεριφοράς και τα ψυχιατρικά προβλήματα γίνονται εμφανέστερα. Η αναπτυξιακή καθυστέρηση είναι ήπια, υπάρχουν επίσης μαθησιακά προβλήματα, κοινωνική ανωριμότητα, φοβίες μαζί με άγχος και στην ενήλικη ζωή αναπτύσσονται συνήθως σοβαρά ψυχιατρικά προβλήματα.²⁵⁰

Σταθερά παρατηρούνται σχεδόν σε όλους τους ασθενείς επικοινωνιακές διαταραχές (90%), ενώ στο 70% η ομιλία είναι ένρινη λόγω της υπερώιο-φαρυγγικής ανεπάρκειας. Ειδικές λογοθεραπείες και εργασιοθεραπείες ενδείκνυται. Η υπερκινητικότητα και η διάσπαση προσοχής είναι συχνά συμπτώματα.

Επίσης συχνά είναι και ψυχιατρικά προβλήματα ειδικότερα στην εφηβεία (σχιζοφρένεια, ψύχωση, διπολικές διαταραχές). Ένα από τα γονίδια που περιλαμβάνονται στην ελλειμματική περιοχή 22q11.2 είναι και το γονίδιο της COMT. Έτσι οι ασθενείς με 22q11.2 ελλειμματικό σύνδρομο φέρουν ένα μόνο αντίγραφο του COMT γονιδίου.

1.4.2 Συσχέτιση του συνδρόμου με τη σχιζοφρένεια

Πάρα πολλές μελέτες έχουν συνδέσει το VCFS με αυξημένο ρυθμό ψυχιατρικών διαταραχών όπως σχιζοφρένεια και διπολική διαταραχή.²⁵¹ Ο Murphy και οι συνεργάτες του²⁵² ανέφεραν ότι το 24% ενός δείγματος ασθενών με VCFS διαγνώστηκαν με σχιζοφρένεια και οι Pulver και οι συνεργάτες του²⁵³ ανέφεραν ότι το 31% ενός δείγματος ατόμων με VCFS πληρούν τα κριτήρια της σχιζοφρένειας. Οι παραπάνω μελέτες δείχνουν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης σχιζοφρένειας και συναφών διαταραχών στον πληθυσμό των ατόμων με VCFS είναι 25 με 30 φορές αυξημένος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Αναφέρουμε επίσης ότι η έρευνα δεν έχει δείξει αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση σχιζοφρένειας σε άτομα που φέρουν άλλα γενετικά σύνδρομα.^{110,254} Όλα αυτά τα ευρήματα αποτελούν μέχρι σήμερα την πιο ισχυρή ένδειξη, ότι υπάρχει ισχυρή σχέση μεταξύ της προδιάθεσης για εμφάνιση σχιζοφρένειας και μιας γνωστής γενετικής ανωμαλίας.

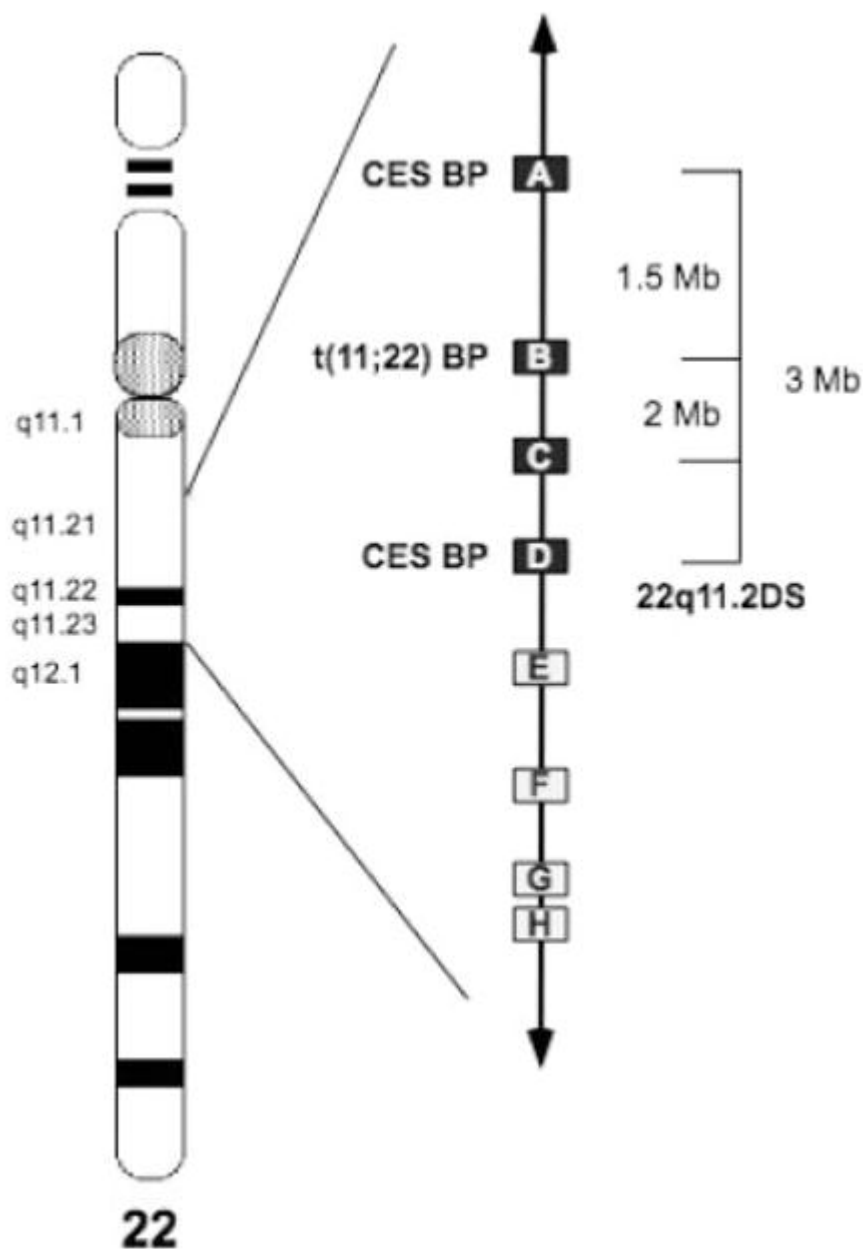
Σε μία μελέτη οι Gothelf και οι συνεργάτες του²⁵⁵ έδειξαν ότι στην παιδική ηλικία (μέσος όρος 13 χρόνια) οι ασθενείς οι οποίοι είναι ημιζυγώτες για το χαμηλής δραστηριότητας αλληλόμορφο γονίδιο, δηλ. οι Met¹⁵⁸ ημιζυγώτες αποδίδουν πολύ καλύτερα σε σχέση με τους Val¹⁵⁸ ημιζυγώτες σε γνωσιακά τεστ και ελέγχου του δείκτη νοημοσύνης (IQ tests). Ενώ αργότερα, προς το τέλος της εφηβείας (μέση ηλικία 18 χρόνια), οι Val¹⁵⁸ ημιζυγώτες ανταποκρίνονται πολύ καλύτερα, διότι παρατηρείται μία κάμψη της λειτουργίας της ομάδας των Met¹⁵⁸ ημιζυγωτών. Αυτή η μελέτη ξεκαθαρίζει προηγούμενες αντικρουόμενες μελέτες. Οι Bearden et al.(2004),²⁵⁶ έδειξαν καλύτερη επιτελική λειτουργία στους Met¹⁵⁸ ημιζυγώτες σε σύγκριση με τους Val¹⁵⁸ ημιζυγώτες σε μία ομάδα παιδιών με μέσο όρο ηλικίας τα 11 χρόνια. Αντίθετα οι Baker et al. (2005),²⁵⁰ έδειξαν φτωχότερη λειτουργία στους Met¹⁵⁸ ημιζυγώτες σε σύγκριση με τους Val¹⁵⁸ ημι ζυγώτες σε μία ομάδα εφήβων με μέσο όρο ηλικίας τα 16 έτη. Η διαφορά αυτή μεταξύ της ωφέλιμης επίδρασης του Met¹⁵⁸ αλληλόμορφου στην παιδική ηλικία και του Val¹⁵⁸ αλληλόμορφου στην εφηβική και πιθανώς και στη μετέπειτα ζωή, ίσως εξηγείται από την σταδιακή μετεμβρυϊκή ανάπτυξη του ντοπαμινεργικού συστήματος στον προμετωπιαίο φλοιό. Έτσι για παράδειγμα, οι πυραμιδικοί νευρώνες του προμετωπιαίου φλοιού αποκτούν πλήρη κατεχολαμινεργική εννεύρωση όχι νωρίτερα από την εφηβεία. Η αναπτυξιακή σχέση μεταξύ προμετωπιαίας ντοπαμίνης και COMT γίνεται περισσότερο πολύπλοκη από το γεγονός, ότι η δραστηριότητα της COMT αυξάνει στον προμετωπιαίο φλοιό

κατά την διάρκεια της μετεμβρυϊκής ανάπτυξης και προσεγγίζει το μέγιστο στην ενήλικη ζωή.²⁵⁷ Γι' αυτό το λόγο είναι δύσκολο να προβλέψουμε σε ποιο σημείο της ανάστροφης "U" καμπύλης κείτονται οι Met¹⁵⁸ και οι Val¹⁵⁸ ημιζυγώτες κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας.²⁵⁸

Πάντως τα ευρήματα των μελετών στο τέλος της εφηβείας είναι σύμφωνα με το μοντέλο της ανάστροφης "U" σχέσης της COMT. Συνεπώς, η παρουσία του Val¹⁵⁸ αλληλόμορφου σε ένα ημιζυγωτικό 22q γενετικό υπόβαθρο εμφανίζει επίπεδα δραστηριότητας της COMT πιο κοντά στα καλύτερα COMT ενζυμικά επίπεδα που έχουν οι φυσιολογικοί Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες. Σε αντίθεση, οι Met¹⁵⁸ ημιζυγώτες έχουν κάτω από το επιθυμητό επίπεδα ενζυμικής COMT δραστηριότητας, έχοντας ως αποτέλεσμα αυξημένη ντοπαμινεργική λειτουργία και συνεπώς διαταραγμένη γνωσιακή λειτουργία.²⁵⁹ Με άλλα λόγια η σχέση των αλληλίων Val¹⁵⁸Met εξαρτάται από το σημείο της καμπύλης του ανάποδου "U" σχήματος ντοπαμίνης-προμετωπιαίου φλοιού, που βρίσκεται το συγκεκριμένο άτομο. Η ημιζυγωτία είναι ευεργετική για τα άτομα που φέρουν τον πολυμορφισμό με την υψηλή ενζυματική δραστηριότητα, Val¹⁵⁸, μετακινώντας τα άτομα αυτά πιο κοντά στην κορυφή της καμπύλης, και διαταράσσει τα άτομα που φέρουν τον χαμηλής ενζυματικής δραστηριότητας πολυμορφισμό, Met¹⁵⁸ μετακινώντας στην κάτω κλίση της καμπύλης¹⁴⁷ (εικόνα 23).

Υπάρχει σοβαρό δίλημμα όσον αναφορά την αντιμετώπιση της υπερκινητικότητας και της διάσπασης της προσοχής, επειδή τα χορηγούμενα φάρμακα αυξάνουν την έκκριση ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. Ως εκ τούτου, η χορήγηση διεγερτών ντοπαμίνης στους ασθενείς με σύνδρομο υπερωιο-καρδιο-προσωπικό και χαμηλής δραστηριότητας COMT αλληλόμορφο, μπορεί να αυξήσει τα ψυχιατρικά συμπτώματα.

Συμπερασματικά, τα υψηλά ποσοστά εμφάνισης σχιζοφρένειας σε ασθενείς με VCFS, σε συνδυασμό με τον εντοπισμό του COMT γονιδίου στην ελλειμματική περιοχή του συνδρόμου, ενισχύει το ρόλο της COMT στην σχιζοφρένεια και την χρησιμότητα ορισμού των ατόμων με VCFS σαν ένας υψηλού κινδύνου πληθυσμός.



Εικόνα 27.

Το χρωμόσωμα 22 και χρωμοσωμικές ανακατατάξεις. Τα μαύρα τετράγωνα (A-D) αντιστοιχούν σε αυτές τις περιοχές που συνήθως εμπλέκονται σε ανακατατάξεις. Τα λευκά τετράγωνα (E-H) αντιστοιχούν σε περιοχές που σπανίως εμπλέκονται σε ανακατατάξεις. Η περιοχή εντός της αγκύλης είναι η περιοχή όπου συνήθως παρατηρούνται μικρο-αφαιρέσεις του χρωμοσώματος 22q11.2. Επίσης απεικονίζονται οι περιοχές που ευθύνονται για άλλα δύο σύνδρομα CES και t(11;22) (Emanuel BS. 2008)²⁶⁰

Το σύνδρομο μικροελλείματος 22q11 χαρακτηρίζεται από μία περιοχή ~3Mb, η οποία απουσιάζει στο 85% των ασθενών. Η χρωμοσωμική περιοχή 22q11 χαρακτηρίζεται από την παρουσία περιοχών χαμηλής αντιγραφικής επανάληψης ή τμηματικές

επαναλήψεις(low-copy repeats LCR) οι οποίες έχουν συνδεθεί με διάφορα σύνδρομα που οφείλονται σε γονιδιακές ανωμαλίες. Οι ανωμαλίες του 22q περιλαμβάνουν:

- Cat eye syndrome (CES), σύνδρομο που κάνει την ίριδα του ματιού να αλλοιώνεται και χαρακτηρίζεται από διπλασιασμό ή τριπλασιασμό τμήματος του χρωμοσώματος.
- Emanuel syndrome, t(11;22) τα άτομα αυτά έχουν ένα υπεράριθμο χρωμόσωμα που αποτελείται από ένα κομμάτι του χρωμοσώματος 22 κολλημένο στο χρωμόσωμα 11.
- Velocardiofacial syndrome, όπου απουσιάζει ένα τμήμα του χρωμοσώματος 22²⁶⁰ (εικόνα 27).

1.5 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΛΟΤΥΠΟΥ

1.5.1 Τα δεδομένα από τη μοριακή γενετική

Το μεθοδολογικό πλαίσιο: Με την ανάπτυξη τεχνικών μοριακής βιολογίας τα τελευταία 20 χρόνια κατέστη δυνατό να μελετηθεί περαιτέρω το γονιδιακό υπόβαθρο της προδιάθεσης για σχιζοφρένεια. Δύο βασικές μεθοδολογίες χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα για τον σκοπό αυτόν:

- οι μελέτες συσχέτισης (association studies) και
- οι μελέτες ανάλυσης σύνδεσης (linkage studies).

Στις μελέτες συσχέτισης συγκρίνεται η κατανομή συχνοτήτων ενός πολυμορφικού δείκτη σε μία ομάδα ασθενών και σε μία ομάδα ελέγχου. Εάν βρεθούν διαφορές, συμπεραίνεται ότι ο δείκτης συσχετίζεται με την εμφάνιση της νόσου. Αυτό συμβαίνει είτε επειδή ο δείκτης εντοπίζεται σε κάποιο γονίδιο που εμπλέκεται στον παθογενετικό μηχανισμό της νόσου, είτε γιατί βρίσκεται σε ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium) με κάποιο άλλο εμπλεκόμενο γονίδιο. Στις μελέτες ανάλυσης σύνδεσης διερευνάται η πιθανή σύνδεση (δηλαδή συγκληρονόμηση) συγκεκριμένων γενετικών πολυμορφικών δεικτών με τη νόσο, σε οικογένειες πασχόντων.

Οι μελέτες συσχέτισης έχουν γενικά μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από τις μελέτες σύνδεσης. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία στην ανίχνευση γονιδίων με μικρή ή σχετικά μικρή συνεισφορά στην προδιάθεση. Επειδή όμως η γενετική σύνδεση εκτείνεται σε πολύ μεγαλύτερες γενετικές αποστάσεις από την από την ανισορροπία σύνδεσης, επιτρέπει τον έλεγχο ολόκληρου του γονιδιώματος με πολύ μικρότερο αριθμό δεικτών.²⁶¹

Είναι λοιπόν πολύ πιθανό ότι ο Val158Met πολυμορφισμός αλληλεπιδρά με άλλες περιοχές μέσα στο γονίδιο της COMT είτε με άλλα γονίδια σε άλλες περιοχές.

Ο Li et al.²⁰⁷ ήταν οι πρώτοι που έδειξαν αυξημένη μετάδοση του Val αλληλόμορφου σε οικογένειες με άτομα με σχιζοφρένεια. Αργότερα ακολούθησαν άλλες μελέτες που επέκτειναν την αρχική αυτή εργασία. Μία μετα-ανάλυση που διεξήχθη από τους Glatt et al.²⁰³ εξέτασε 14 μελέτες ασθενών-μαρτύρων και 5 μελέτες πληθυσμών οικογενειών κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ 1996 και 2002. Συνολικά οι μελέτες ασθενών μαρτύρων δεν έδειξαν να υπάρχει συσχέτιση κανενός από τα δύο αλληλόμορφα με τη σχιζοφρένεια, άλλα οι μελέτες οικογενειών έδειξαν μία μικρή εμπλοκή του Val αλληλόμορφου με τον κίνδυνο εκδήλωσης της ασθένειας. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα αντικρουόμενα συμπεράσματα από τις διάφορες μελέτες

οφείλονται ίσως ότι μέχρι αρκετά πρόσφατα η πλειονότητά τους γινόταν σε σχετικά μικρά δείγματα ασθενών-μαρτύρων (200-300 συνολικά), με αποτέλεσμα να μην είναι μεθοδολογικά δυνατόν να ανιχνευτεί η συμβολή γονιδίων με σχετικά μικρή συμμετοχή στην προδιάθεση. Το αποτέλεσμα είναι ο πολύ μεγάλος αριθμός μελετών με στατιστικό σφάλμα τύπου II, δηλ. ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Δεν είναι διόλου απίθανο ο Val158Met πολυμορφισμός να έχει αποκλειστεί άδικα. Επιπλέον, για τις μελέτες ασθενών-μαρτύρων, εκτός από το μικρό μέγεθος δείγματος και η ανομοιογένεια του πληθυσμού μπορεί να περιπλέκει τα αποτελέσματα. Ακόμη και στις μελέτες οικογενειών που δεν υπάρχει σε μεγάλο βαθμό ανομοιογένεια, η εθνικότητα των ατόμων πρέπει να ληφθεί υπόψη. Έτσι, όλες οι μελέτες οικογενειών, που συμμετείχαν άτομα με Ευρωπαϊκή καταγωγή, έδειξαν ότι το Val αλληλόμορφο αποτελεί μικρό αλλά συνεχόμενο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου, κάτι που δεν είναι ξεκάθαρο στις μελέτες οικογενειών με Ασιατική προέλευση.

Υπό το πρίσμα όλων αυτών των αντικρουόμενων απόψεων οι Shifman et al.²⁰⁴ εξέτασαν ένα μεγάλο δείγμα Ισραηλινών Εσκενάζυ (720 σχιζοφρενείς ασθενείς, 2970 μάρτυρες). Η εξέταση αυτού του Εβραϊκού πληθυσμού είχε το πλεονέκτημα της μειωμένης γενετικής ποικιλομορφίας. Ενώ στις περισσότερες μελέτες ο Val/ Met πολυμορφισμός ήταν ο μόνος που εξεταζόταν, οι Shifman et al. μελέτησαν και άλλους πολυμορφισμούς στο γονίδιο της COMT. Έτσι άλλοι δύο μονο-νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), που βρίσκονται στο ιντρόνιο 1 και στο 3' UTR (rs737865 και rs165599) βρέθηκαν ότι σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια. Η μελέτη αυτή έδειξε μία μικρή επίδραση του Val/Met αλληλόμορφου στον κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας σε αντίθεση με τη στατιστικά σημαντική συνεισφορά των 2 άλλων SNPs στην ασθένεια. Έτσι το Val/Met αλληλόμορφο μπορεί να μην συνεισφέρει στην ασθένεια, αλλά μπορεί να είναι σε στενή ανισορροπία σύνδεσης (LD) με τον προδιαθεσικό παράγοντα. Ακόμη το SNP rs 165599 επηρεάζει κυρίως τις γυναίκες και παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών και στο γενικό πληθυσμό, ενώ το rs737865 επιδρά και στα δύο φύλα. Τέλος, έγινε απλοτυπική ανάλυση των 3 SNPs και βρέθηκε ότι ο G-G-G απλότυπος έδωσε την πιο σημαντική συσχέτιση με τη σχιζοφρένεια ($P=9.5 \times 10^{-8}$).²⁰⁴

Η μελέτη των Hadoko et al.²⁶² υποστηρίζει διαφορετικό απλότυπο κινδύνου.

Η απλοτυπική ανάλυση έχει δώσει τη δυνατότητα να εξεταστούν πολλαπλοί δείκτες μέσα στο γονίδιο της COMT. Έτσι ενώ ο Val/Val πολυμορφισμός αποτελεί

δείκτη του κινδύνου εμφάνισης σχιζοφρένειας, η μελέτη του απλότυπου βελτιώνει την πρόβλεψη πολύ περισσότερο από τη μελέτη καθενός αλληλόμορφου ξεχωριστά.

Μία άλλη μεγάλη μελέτη²⁶³ σε ασθενείς και μάρτυρες εξέτασε τη σχέση του απλότυπου που νωρίτερα είχε περιγράψει η ομάδα του Shifman σε ασθενείς με ψύχωση και διαταραχές διάθεσης. Ο Val158Met, rs737865, και ο rs165599 πολυμορφισμοί σχετίζεται με την ομάδα των ασθενών, και ο αντίστροφος απλότυπος (A-A-A) έχει μειωμένη εμφάνιση στην ομάδα των ασθενών, ίσως υποδηλώνοντας ότι αυτός ο απλότυπος προσφέρει ένα προστατευτικό πλεονέκτημα. Η ανάλυση των απλότυπων μπορεί να βελτιώσει πάρα πολύ την ακρίβεια της πρόβλεψης όχι μόνο όσο αναφορά τη σχιζοφρένεια, αλλά και όσο αναφορά τις γνωσιακές και διαταραχές συμπεριφοράς της ψύχωσης.

Συνεπώς, δεν υπάρχει ομοιογένεια αποτελεσμάτων, όσο αναφορά τον απλότυπο κινδύνου της νόσου, μεταξύ των διαφόρων μελετών σε διαφορετικούς πληθυσμούς (πίνακας 3).

-278A/G	rs737865	Val/Met	rs165599	
X	G	G	G	Shifman et al(2002): Schizophrenia
X	G	G	G	Shifman et al(2004):Bipolar disorder
G	X	G	X	Li et al.(2000) : Schizophrenia
X	A	G	A	Chen et al. (2004) : Schizophrenia
X	A	A	A	Handoko et al.(2005) :Schizophrenia

Πίνακας 3.

Στην εικόνα αυτή φαίνονται οι απλότυποι κινδύνου σε διαφορετικές μελέτες και διαφορετικούς πληθυσμούς. Στο πάνω μέρος αναφέρεται το SNP και από κάτω αναφέρονται τα αντίστοιχα αλληλόμορφα. Ως “x” υποδηλώνεται το SNP που δεν μελετήθηκε.

1.5.2 COMT και γνωσιακός ενδοφαινότυπος

Οι ψυχιατρικές ασθένειες χαρακτηρίζονται από ένα σύνολο ειδικών καταστάσεων και συμπτωμάτων, που λέγεται φαινότυπος. Μία νέα επιστημονική διάσταση παίρνει και ταξινομεί στοιχεία του φαινοτύπου αυτού σε σχέση με μοριογονιδιακές διαδικασίες. Τα επιμέρους αυτά ταξινομημένα στοιχεία χαρακτηρίζονται ως ενδοφαινότυποι ή ενδιάμεσοι φαινότυποι.²⁶⁴ Οι ενδοφαινότυποι χαρακτηρίζονται ως « μετρούμενα στοιχεία ...στο μονοπάτι της διαδρομής μεταξύ ασθένειας και μακρινού γονότυπου », και για τα οποία υποθέτουμε ότι προσφέρουν πιο άμεσους συνδέσμους με τα υποψήφια γονίδια από ό,τι η πλήρης εκφραζόμενη κλινική διαταραχή. Επομένως η έννοια του ενδοφαινότυπου έχει μεγάλη χρησιμότητα στην εξέταση της γενετικής κληρονομικότητας, κυρίως σε πολύπλοκες ασθένειες όπου μπορεί η κληρονομικότητα να έχει πολλαπλές διαστάσεις.²⁶⁵ Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της σχιζοφρένειας μπορεί να σχετίζονται άμεσα με συγκεκριμένες γενετικές και παθοφυσιολογικές διαδικασίες, και η ταυτοποίηση αυτών των ενδοφαινοτύπων ενισχύει την ανακάλυψη γονιδίων και μονοπατιών που επηρεάζουν την ανάπτυξη ψύχωσης. Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η παθοφυσιολογία του προμετωπιαίου φλοιού παίζει κεντρικό ρόλο στην σχιζοφρένεια και έτσι η γνωσιακή δυσλειτουργία μπορεί να αντιπροσωπεύει έναν ενδοφαινότυπο.²⁶⁵ Ειδικότερα, η γνωσιακή λειτουργία, που περιλαμβάνει την εργαζόμενη μνήμη και την επιτέλεση εκτελεστικών εργασιών, αποτελεί μία διακριτή διάσταση, που σχετίζεται με την κληρονομικότητα, στη σχιζοφρένεια. Αυτή η διαταραχή παρατηρείται και σε άλλους ασθενείς που χαρακτηρίζονται ως σχιζοτυπικοί και σχετίζεται περισσότερο ισχυρά με τον COMT Val158Met πολυμορφισμό από ότι η σχιζοφρένεια από μόνη της. Συνεχιζόμενη μελέτη γονιδίων όπως η COMT με τους υποτιθέμενους ενδοφαινοτύπους μπορεί να δώσει καλύτερα αποτελέσματα από ότι η μελέτη γονιδίων με το σύνολο της ασθένειας.²⁶⁶

Η ταξινόμηση των ενδοφαινοτύπων σε σχέση με την ψυχιατρική γενετική και την κατάταξη των ψυχιατρικών ασθενειών είναι ένα νέο επιστημονικό επίτευγμα με τεράστια σημασία για τη διάγνωση και τη θεραπεία των νοσημάτων αυτών. Δίδεται λοιπόν στη σχιζοφρένεια πάρα πολύ μεγάλη σημασία στους ενδοφαινότυπους μικροκλινικών διαφορών της συμπτωματολογίας, διότι μελετώντας τους, πάει στην «ρίζα» της αρρώστιας, άρα και στην ουσιώδη θεραπεία.

1.5.3 Θεραπευτική προσέγγιση της COMT

Έχοντας υπόψη το σημαντικό ρόλο της COMT στη γνωσιακή λειτουργία, στη ρύθμιση της ντοπαμίνης και στη σχιζοφρένεια και του γεγονότος ότι είναι ένα ένζυμο για το οποίο είναι ήδη διαθέσιμοι αναστολείς της, την καθιστά έναν πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο για τις γνωσιακές δυσλειτουργίες στη σχιζοφρένεια. Καταρχήν ο γονότυπος της COMT Val¹⁵⁸Met συσχετίζεται με την ανταπόκριση του προμετωπιαίου φλοιού στα άτυπα αντιψυχωτικά.²⁶⁷ Ο φαρμακολογικός μηχανισμός που προτείνεται γι' αυτόν τον συσχετισμό είναι ότι μειώνοντας τη δράση της COMT αυξάνεται η απελευθέρωση ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό που προκαλείται από την χορήγηση κλοζαπίνης.¹⁵⁶ Επιπλέον, μελέτες προτείνουν ότι αναστολή της COMT βελτιώνει την εργαζόμενη μνήμη και την επιτελική λειτουργία σε υγιείς εθελοντές. Το αποτέλεσμα της χορήγησης tolcapone, αναστολέα της COMT εξαρτάται από το γονότυπο. Έτσι οι Val¹⁵⁸ ομοζυγώτες βελτιώνουν σημαντικά την απόδοσή τους με την χορήγηση tolcapone, ενώ στους Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες η απόδοση σε ορισμένα τεστ χειροτερεύει.¹⁷³ Το επιβλαβές αποτέλεσμα της χορήγησης tolcapone σε Met¹⁵⁸ ομοζυγώτες ίσως προκύπτει από υπερβολική αναστολή της COMT, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τα πολύ παραπάνω από τα φυσιολογικά επίπεδα ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό (εικόνα 23).

Έτσι η COMT εμπλέκεται στη θεραπεία της σχιζοφρένειας τόσο σε επίπεδο φαρμακογενετικού υπόβαθρου (διότι οι Val¹⁵⁸ και οι Met¹⁵⁸ φορείς μπορεί να ανταποκρίνονται διαφορετικά στην χορηγούμενη αντιψυχωσική αγωγή), όσο και σαν άμεσος φαρμακευτικός στόχος για την αντιμετώπιση της γνωσιακής δυσλειτουργίας στη σχιζοφρένεια.

1.5.4 Λειτουργικός ρόλος της COMT : όχι μόνο Val158Met

Ο Val¹⁵⁸Met πολυμορφισμός αποσκοπεί στο να ορίσουμε σε ποιο σημείο της καμπύλης του ανάστροφου ‘U’ βρίσκεται η λειτουργία της προμετωπιαίας ντοπαμίνης σε ένα συγκεκριμένο άτομο. Εάν αυτός ο πολυμορφισμός έχει ευεργετικές ή καταστροφικές ιδιότητες για το συγκεκριμένο άτομο εξαρτάται από πάρα πολλούς παράγοντες : όπως άλλοι πολυμορφισμοί μέσα στο γονίδιο της COMT,¹⁵⁹ τη φύση της εργασίας που θέλει να επιτελέσει το άτομο¹⁶⁹ και από την ντοπαμινεργική κατάσταση του προμετωπιαίου φλοιού.^{173,255} Το φύλο του ατόμου επίσης μπορεί να παίζει ρόλο.¹⁸² Ένας πολυμορφισμός σε ένα γονίδιο κινδύνου δε δρα από μόνος του, αλλά σε συνδυασμό με περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες για να αυξήσει την επικινδυνότητα για την εμφάνιση της ασθένειας.²⁶⁸ Έτσι είναι προτιμότερο από το να μελετήσουμε εάν ένα αλληλόμορφο ή ένας απλότυπος σχετίζεται με την ασθένεια, να εξετάσουμε τη συνέργεια μεταξύ πολλών πολυμορφισμών μέσα σ’ ένα γονίδιο, μεταξύ γονιδίων και σε συνδυασμό με περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Παρόλο που έχουν περάσει 50 χρόνια από την ανακάλυψη της COMT (Axelrod and Tomchick 1958),¹³⁹ εξακολουθεί να αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο υποψήφιο γονίδιο για την παθογένεση της σχιζοφρένειας. Οι πολυπαραγοντικές ασθένειες χαρακτηρίζονται από πληθώρα διαφορετικών συμπτωμάτων, και οι διάφορες στρατηγικές ταξινόμησης δημιουργούν ομάδες ασθενών που δεν είναι ομοιογενείς. Γι’ αυτό το λόγο είναι προτιμότερο να μελετηθεί η σχέση της COMT με ενδοφαινότυπο, παρά με τη σχιζοφρένεια ως σύνδρομο.

1.6 ΣΚΟΠΟΣ

Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί μία μη επεμβατική, μη παρεμβατική μελέτη. Αφορά στον συσχετισμό της σχιζοφρένειας με τρεις πολυμορφισμούς στο γονίδιο COMT.

Οι στόχοι της παρούσας διδακτορικής εργασίας είναι οι ακόλουθοι:

1. Εξέταση της συχνότητας κατανομής τριών σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών του γονιδίου της COMT σε Έλληνες ασθενείς και μάρτυρες. Ειδικότερα, μελέτη των rs737865, rs4680 και rs165599 και διερεύνηση της ύπαρξης συσχέτισης καθεμίας ξεχωριστά από τις τρεις παραλλαγές με τη σχιζοφρένεια
2. Μελέτη του απλοτύπου που θα να προκύψει από συνδυασμούς αλληλόμορφων των τριών πολυμορφισμών rs737865, rs4680 και rs165599, και θα σχετίζεται με προστατευτική ή επιβαρυντική δράση στην εκδήλωση της νόσου.
3. Στην περίπτωση που εντοπιστούν απλότυποι κινδύνου ή προστατευτικοί για την σχιζοφρένεια, διερεύνηση των πιθανών γονοτύπων από τους οποίους δύναται να προέλθουν.

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1 ΥΛΙΚΑ

2.1.1 Ασθενείς και μάρτυρες

Εκατόν οχτώ ασθενείς ελληνικής καταγωγής με σχιζοφρένεια έχουν συμπεριληφθεί σε αυτή τη μελέτη, αφού πρωτύτερα, είχε ληφθεί η συγκατάθεσή τους. Οι ασθενείς προέρχονται από το Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Αττικής «Δαφνί», και πιο συγκεκριμένα από τη κλινική που στεγάζεται στο κτίριο 10 του νοσοκομείου. Διευθυντής της κλινικής είναι ο Κ_{ος} Τουλούμης Χαράλαμπος, ειδικευόμενος ιατρός ο Κ_{ος} Βλάχος Ηλίας και προϊσταμένη της κλινικής η Κ_α Πλευράκη Μαρία. Η μελέτη έχει την έγκριση του επιστημονικού συμβουλίου του νοσοκομείου. Από τους ασθενείς, τριάντα εννέα ήταν γυναίκες και εξήντα εννέα άντρες με μέσο όρο ηλικίας τα $43,32 \pm 12,24$ έτη. Η διάγνωση της σχιζοφρένειας τέθηκε μετά από κλινική εξέταση με βάση το ιστορικό της ασθένειας και τα διαγνωστικά κριτήρια του DSMIV από ειδικευμένους ψυχιάτρους του νοσοκομείου.

Παράλληλα ως μάρτυρες (controls) χρησιμοποιήθηκαν ενενήντα επτά δείγματα, τα οποία ελήφθησαν από την τράπεζα δειγμάτων της εταιρείας τεχνοβλαστός του Πανεπιστημίου Αθηνών Research Diagnostics. Η επιλογή των συγκεκριμένων δειγμάτων έγινε βάση του ιατρικού ιστορικού κάθε ατόμου στο οποίο αντιστοιχεί κάθε δείγμα. Από το σύνολο των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες, οι είκοσι έξι ήταν γυναίκες και οι εβδομήντα ένα άντρες με μέσο όρο ηλικίας τα $42,00 \pm 11,68$ έτη.

Από τη μελέτη έχουν αποκλειστεί άτομα που δεν ήταν ελληνικής καταγωγής, άτομα που αρνήθηκαν να δώσουν τη συγκατάθεσή τους για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Ακόμη δε συμμετείχαν άτομα των οποίων η ψύχωση κρίθηκε δευτερογενής κάποιας άλλης ασθένειας π.χ. επιληψίας, άνοιας, νόσου Alzheimer, άτομα που κάνουν χρήση ναρκωτικών ουσιών και τέλος άτομα με πνευματική καθυστέρηση.

Αυτή η μελέτη αποτελεί μια μη επεμβατική και μη παρεμβατική μελέτη και αφορά στον συσχετισμό της σχιζοφρένειας με τρεις πολυμορφισμούς στο γονίδιο COMT. Η συλλογή των δειγμάτων έγινε μέσω αιμοληψίας. Για κάθε ασθενή συλλέχθηκαν 5 ml αίμα για την ανάλυση των πολυμορφισμών.

2.1.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

Κατά τα διάφορα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω εργαστηριακός εξοπλισμός:

2.1.2.1 Όργανα

- Lightcycler[®] 480 Instrument, Roche Applied Science, Roche Diagnostics GmbH, Switzerland
- Φυγόκεντρος: Eppendorf Zentrifuge 5412, Germany
- Φυγόκεντρος: Sorvall[®] MC 12V, Dupont (0-12x100 rpm), France
- Plate Spin, Plate Refrigerated Centrifuge για flashing στα 10sec, Kubota Corporation, Japan (0-25x100 rpm)
- Συσκευή αυτόματου αναδευτήρα (Vortex): Vibrofix VF1 Electronic, Janke&Kunkel, Labortechnik, Germany

2.1.2.2 Αναλώσιμα

- Ρυθμιζόμενες ογκομετρικές πιπέτες ακριβείας: Gilson 2-20μl, Gilson 10-100μl, Gilson 50-200μl, Gilson 200-1000μl. (Pipetman[®] P)
- Πλαστικές πιπέτες Pasteur
- Πλαστικά tips για τις πιπέτες κίτρινα και μπλε, αποστειρωμένα και ελεύθερα ιχνών νουκλεασών, με φίλτρο για αποφυγή επιμόλυνσης, Saoustedt, Germany
- Πλαστικά φιαλίδια των 2ml (Eppendorf), Germany
- Δίσκοι 96 θέσεων κατάλληλοι για τη διεξαγωγή της PCR (multiwell plate, Lightcycler[®] 480 Multiwell Plate 96), Roche Applied Science, Roche Diagnostics GmbH, Switzerland
- Lightcycler[®] 480 Sealing Foil, Roche Applied Science, Roche Diagnostics GmbH, Switzerland

2.1.2.3 Αντιδραστήρια

Για την απομόνωση του γενετικού υλικού (DNA) από τα δείγματα τούτα, χρησιμοποιήθηκε το Wizard Gemonic DNA Purification kit της Promega (USA). Στο συγκεκριμένο kit περιλαμβάνονται τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Διάλυμα για τη λύση των κυττάρων (Cell Lysis Solution) (100 ml)
- Διάλυμα για τη λύση των πυρήνων (Nuclei Lysis Solution) (50 ml)
- Διάλυμα καθίζησης των πρωτεϊνών (Protein Precipitation Solution) (25 ml)
- Διάλυμα για το RNA (RNase Solution) (0.250 ml)
- Διάλυμα ενυδάτωσης DNA (DNA Rehydration Solution 10mM Tris, 1 mM EDTA) (50 ml)

Εκτός από τα παραπάνω αντιδραστήρια που περιλαμβάνονται στο kit για την απομόνωση του γενετικού υλικού, χρησιμοποιήθηκαν και τα ακόλουθα:

- Απόλυτη αιθανόλη - Ethanol (99,9%), Panreac Quimica SA, Barcelona, Spain η οποία αραιώθηκε με αποσταγμένο νερό έως 70%.
- Διάλυμα ισοπροπανολόλης (Isopropanol)
- Νερό δις αποσταγμένο, αποστειρωμένο και επεξεργασμένο με DEPC (διεθυλοπυροκαρβονικό οξύ) (PCR grade water), Sigma Diethyl Pyrocarbonate (97% NMR), Berlin, Germany.

Για την παρασκευή του παραπάνω ύδατος DEPC προστέθηκε 1ml σκευάσματος διεθυλοπυροκαρβονικού οξέος (DEPC) 0,1% σε 1000ml αποσταγμένου ύδατος, ακολούθησε ανάμιξη και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για μία ώρα. Έπειτα πραγματοποιήθηκε αποστείρωση σε αυτόκλειστο και ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου.

Για τη διαδικασία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (rt PCR) και ειδικότερα, για την ανάλυση του γονιδίου COMT, χρησιμοποιήθηκε το LightMix kit για τους τρεις πολυμορφισμούς rs737855, rs4680 και rs165599, της εταιρείας TIB-MOLBIOL. Το kit περιέχει φιαλίδια με λυοφιλοποιημένα primers (ολιγονουκλεοτίδια συνθετικού DNA) και probes (συνθετικούς ανιχνευτές DNA) (Reagent Mix) που το καθένα αρκεί για 96 αντιδράσεις PCR.

Επίσης, κατά τη διάρκεια της PCR για την προετοιμασία του αρχικού μίγματος της αντίδρασης (reaction master mix) εκτός από το παραπάνω kit, χρησιμοποιήθηκε Lightcycler Genotyping 480 DNA Master, της Roche Diagnostics. Το αντιδραστήριο αυτό, περιέχει μία τροποποιημένη Taq DNA πολυμεράση, διάλυμα διατήρησης του pH του διαλύματος (reaction buffer), μίγμα dNTP (με dATP, dCTP, dGTP και dUTP [αντί dTTP]) και 15 mM MgCl₂. Η συγκέντρωση 15Mm MgCl₂ είναι ιδανική για ενίσχυση γενωμικού DNA με τους χρησιμοποιούμενους εκκινητές. (πίνακας 1).

Πίνακας 1: Προετοιμασία του reaction master mix για το γονίδιο COMT

Για αντίδραση συνολικού όγκου 20μl χρειάζονται τα επόμενα	
H ₂ O	10.4 μl
Reagent Mix	1.0 μl
Lightcycler Genotyping 480 DNA Master	2.0 μl
MgCl ₂	1.6 μl
DNA	5.0 μl (~50ng)

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ

2.2.1 Δειγματοληψίες

Κατά τη διάρκεια προγραμματισμένης νοσηλείας ή επίσκεψης των ασθενών στο Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Αττικής «Δαφνί» έγινε λήψη δείγματος ολικού αίματος για αιματολογικό έλεγχο. Από το δείγμα αυτό ολικού αίματος με EDTA, 2 ml φυλάσσονταν σε ψυγείο θερμοκρασίας +2⁰C για τις ανάγκες της μελέτης. Τα δείγματα συλλέγονταν από το Νοσοκομείο και μεταφέρονταν στο εργαστήριο όπου τοποθετούνταν προς φύλαξη σε καταψύκτη θερμοκρασίας -20⁰C, μέχρι να πραγματοποιηθεί περαιτέρω επεξεργασία, απομόνωση δηλαδή γενετικού υλικού.

Ως μάρτυρες (controls) χρησιμοποιήθηκαν δείγματα DNA, τα οποία ελήφθησαν από την τράπεζα δειγμάτων της εταιρείας τεχνοβλαστός του Πανεπιστημίου Αθηνών Research Diagnostics. Η επιλογή των συγκεκριμένων δειγμάτων έγινε βάση του ιατρικού ιστορικού κάθε ατόμου στο οποίο αντιστοιχεί κάθε δείγμα, έτσι ώστε να είναι υγιή άτομα χωρίς προηγούμενο ιστορικό

οποιασδήποτε ψυχιατρικής ασθένειας. Τα δείγματα αυτά DNA των μαρτύρων φυλάσσονταν σε καταψύκτη θερμοκρασίας -80°C στο εργαστήριο. Τα δείγματα DNA των μαρτύρων απομονώθηκαν με την ίδια μέθοδο, όπως έγινε η απομόνωση του DNA των ασθενών.

2.2.2 Απομόνωση Γενετικού Υλικού-DNA

Για την απομόνωση του γενετικού υλικού (DNA) από τα δείγματα ολικού αίματος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που περιγράφεται στο Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit της εταιρείας Promega (USA):

-Λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων:

1. Σε πλαστικά φιαλίδια των 2ml (Eppendorf) βάζουμε 300μl ολικού αίματος και προσθέτουμε 900μl Cell Lysis Solution. Τα αναμιγνύουμε με κίνηση αναστροφής 5-10 φορές.
2. Αφήνουμε το μίγμα να επωαστεί για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
3. Φυγοκεντρούμε για 20sec στις 11000 στροφές.
4. Απορρίπτουμε το υπερκείμενο υγρό και κρατάμε το ίζημα που περιέχει λευκά αιμοσφαίρια και πρωτεΐνες.

- Λύση λευκών αιμοσφαιρίων και καθίζηση πρωτεϊνών:

5. Προσθέτουμε στο ίζημα 300μl Nuclei Lysis Solution και αναμιγνύουμε με προσοχή για να προκληθεί πλήρης λύση των λευκών αιμοσφαιρίων ανακινώντας τα πλαστικά φιαλίδια με αναστροφή.
6. Στο μίγμα αυτό προστίθεται 2μl RNA solution.
7. Στη συνέχεια προσθέτουμε 100μl Protein Precipitation Solution αναδεύουμε το μίγμα στο Vortex για 20sec.
8. Φυγοκεντρούμε για 3 λεπτά στις 11000 στροφές οπότε και καθιζάνουν οι πρωτεΐνες ενώ το νουκλεϊκό οξύ βρίσκεται στο υπερκείμενο υγρό.

- Καθίζηση DNA και ενυδάτωση του:

9. Μεταφέρουμε το υπερκείμενο υγρό σε νέο πλαστικό φιαλίδιο το οποίο περιέχει 300μl ισοπροπανόλης και αναμιγνύουμε με αναστροφή.
10. Φυγοκεντρούμε για 1 λεπτό στις 11000 στροφές οπότε και καθιζάνει το DNA χωρίς όμως να είναι ορατό.

11. Απορρίπτουμε την υπερκείμενη ισοπροπανόλη και προσθέτουμε 300μl αιθανόλης 70%, αναμιγνύοντας με ελαφριά αναστροφή.
12. Φυγοκεντρούμε για 1 λεπτό στις 11000 στροφές
13. Απορρίπτουμε ένα μέρος της αιθανόλης και το υπόλοιπο αφήνουμε να εξατμιστεί τελείως στον αέρα.
14. Ενυδατώνουμε το DNA με 100μl Rehydration Solution για 1 ώρα στους 65⁰C σε θερμοαντήρα.

Για να αποφευχθεί η επιμόλυνση των δειγμάτων, όλες οι διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τους κανόνες καλής εργαστηριακής πρακτικής που αρμόζουνε στο εργαστήριο μοριακής βιολογίας με ISO17025.

Χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά αποστειρωμένα αναλώσιμα, όπως ρύγχη για πιπέτες, πλαστικές πιπέτες και φιαλίδια. Όλα τα αναλώσιμα καθώς και οι αυτόματες πιπέτες αποστειρώνονταν επιπλέον με UV ακτινοβολία.

Παρατηρήσεις:

α) Ο ρόλος του EDTA είναι διττός:

- Καταρχήν δεσμεύει τα ιόντα Mg^{2+} , δημιουργώντας χηλικά σύμπλοκα, τα οποία χρειάζονται οι νουκλεάσες για να δράσουν. Το EDTA απενεργοποιεί έμμεσα τις νουκλεάσες.
- Το EDTA δεσμεύει τα ιόντα Ca^{2+} , τα οποία με τα διάφορα άλλα ιόντα του αίματος θα ενεργοποιούσαν το μηχανισμό πήξης και θα δημιουργούσαν θρόμβους (ρόλος ως αντιπηκτικό).

β) Η απομόνωση του DNA γίνεται από τα εμπύρνηνα κύτταρα του αίματος, δηλαδή από τα λευκοκύτταρα. Η απομόνωση των λευκοκυττάρων από το ολικό αίμα γίνεται με το αντιδραστήριο Cell Lysis Solution, με τη βοήθεια του οποίου λύνονται τα ερυθροκύτταρα και απομακρύνονται. Το ίζημα που λαμβάνεται με τις φυγοκεντρήσεις αποτελείται από τα λευκοκύτταρα.

γ) Το ίζημα των λευκοκυττάρων, διαλυτοποιείται με το αντιδραστήριο Nuclei Lysis Solution. Η διαλυτοποίηση με το παραπάνω αντιδραστήριο πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο επιτυχής, ώστε να λυθούν οι περισσότεροι πυρήνες και να ληφθεί μεγαλύτερη ποσότητα DNA.

δ) Ο ρόλος του Protein Precipitation Solution είναι η αποδιάταξη και η απομάκρυνση των πρωτεϊνών με τις οποίες συνδέεται το DNA.

ε) Η ισοπροπανόλη έχει την ικανότητα να κατακρημνίζει το DNA στο διάλυμα.

η) Με το διάλυμα αιθανόλης 70% γίνεται έκπλυση του DNA και απομάκρυνση ιχνοποσοτήτων πρωτεϊνών. Η αιθανόλη αφήνεται να εξατμισθεί, διότι προκαλεί αναστολή της PCR.

2.2.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Σήμερα, η πιο επικρατής μέθοδος για την ανίχνευση και ταυτοποίηση γονιδίων αποτελεί η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR). Με την τεχνική PCR, μια ορισμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων μπορεί να πολλαπλασιασθεί γρήγορα και εκλεκτικά από οποιοδήποτε δείγμα γενωμικού DNA. Βασική αρχή της PCR αποτελεί η εκθετική αναπαραγωγή του τμήματος εκείνου του DNA που περιέχει την αλληλουχία που μας ενδιαφέρει. Η PCR αποτελεί μία πολύ γρήγορη τεχνική που χρησιμοποιείται για να πολλαπλασιάσει με ακρίβεια μικρά τμήματα του DNA. Χάρη στην εξαιρετική ταχύτητα, ευαισθησία και εντυπωσιακή της απλότητα, η αντίδραση PCR αποτελεί σήμερα το πλέον βασικό και ουσιαστικό εργαλείο για την βιοϊατρική έρευνα αλλά και τα εργαστήρια Μοριακής Διαγνωστικής.

Η PCR ανακοινώθηκε στην επιστημονική κοινότητα για πρώτη φορά το 1985 και αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές επιστημονικές ανακαλύψεις του 20^{ου} αιώνα. Η PCR έχει αλλάξει, με επαναστατικό τρόπο, τη μελέτη του DNA. Ο εφευρέτης της μεθόδου, Karry Mullis, τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ το 1993.

Το DNA που πολλαπλασιάζεται με την PCR μπορεί να προέρχεται από οποιοδήποτε εμπύρνηνο κύτταρο.

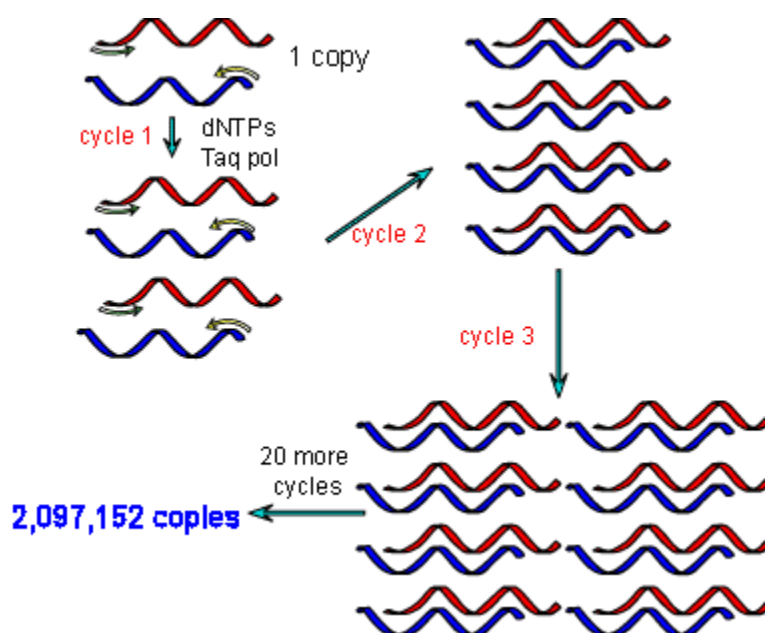
Στη συγκεκριμένη μελέτη, το γενωμικό DNA που χρησιμοποιήθηκε, απομονώθηκε από τα εμπύρνηνα κύτταρα δείγματος ολικού αίματος. Η PCR απαιτεί ελάχιστη ποσότητα DNA και, θεωρητικά, αρκεί το DNA ενός και μόνο κυττάρου για να ενισχυθεί η προς μελέτη αλληλουχία.

Η αλληλουχία DNA που συνορεύει εκατέρωθεν με την προς ενίσχυση αλληλουχία πρέπει να είναι γνωστή εκ των προτέρων, ώστε να προετοιμαστεί ο συνδυασμός των κατάλληλων συμπληρωματικών εκκινητών DNA. Οι εκκινητές (DNA primers) είναι βραχείες συνθετικές αλληλουχίες DNA, μήκους 20 περίπου βάσεων, τα λεγόμενα

ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία είναι συμπληρωματικά μίας και μόνο μοναδικής συμπληρωματικής αλληλουχίας DNA.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης προαπαιτεί την ύπαρξη γενωμικού DNA, κατάλληλους συμπληρωματικούς εκκινητές, τα δεοξυνουκλεοτίδια και μία πολυμεράση DNA υψηλής εξειδίκευσης, που θα πρέπει να είναι θερμοσταθερή. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε μία ειδική συσκευή, που ονομάζεται θερμικός κυκλοποιητής (PCR thermal cycler), η οποία επιτρέπει την ακριβή ρύθμιση και αυξομείωση της θερμοκρασίας κάθε λίγα λεπτά ή δευτερόλεπτα κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Το DNA θερμαίνεται, αρχικά, στους 93-95 °C, ώστε να διαχωριστούν οι δύο αλυσίδες της διπλής έλικας, μία διαδικασία που ονομάζεται αποδιάταξη με θέρμανση. Στη συνέχεια, συνδέονται τα συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια στη συμπληρωματική τους αλληλουχία στο γενωμικό DNA. Μετά τη σύνδεση των ολιγονουκλεοτιδίων-εκκινητών, η DNA πολυμεράση χρησιμοποιεί τα δεοξυνουκλεοτίδια dATP, dCTP, dGTP και dTTP, τα οποία βρίσκονται σε περίσσεια στο διάλυμα της PCR και πολυμερίζει -ανασυστήνει- την αλυσίδα του DNA. Σημεία εκκίνησης για την παραγωγή ενός αντιγράφου της κάθε αλυσίδας του τμήματος του γονιδίου ενδιαφέροντος, αποτελούν τα σημεία στα οποία προσδένονται οι εκκινητές. Έτσι, από ένα μόριο δίκλωνου DNA δημιουργούνται δύο νέα δίκλιωνα μόρια DNA. Στη συνέχεια αυτά τα προϊόντα της πολυμεράσης αποδιατάσσονται και πάλι με θέρμανση και οι διαχωρισμένες αλυσίδες ψύχονται επιτρέποντας έτσι εκ νέου την πρόσδεση των εκκινητών. Με τον τρόπο αυτό, η DNA πολυμεράση παράγει δύο νέα αντίγραφα της κάθε αλυσίδας. Μετά από n τέτοιους κύκλους αποδιάταξης και αντίδρασης πολυμεράσης παράγονται 2×10^n νέα αντίγραφα του γονιδίου, ποσότητα που επαρκεί για τη διεξαγωγή περαιτέρω αναλύσεων όπως είναι η πέψη με περιοριστικές ενδονουκλεάσες και η απεικόνιση του εκάστοτε αποτελέσματος με τζελ αгарόζης (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Μετά από n τέτοιους κύκλους παράγονται 2×10^n νέα αντίγραφα

2.2.4 Real time PCR.

Σημαντική εξέλιξη στην PCR αποτελεί η δυνατότητα παρακολούθησης της αντίδρασης σε πραγματικό χρόνο (real time PCR). Σε αυτή τη μέθοδο, ένα ειδικό ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (probe) ιχνηθετείται στο 5' άκρο του με ένα φθορίζον μόριο-ανταποκριτή (reporter molecule) και στο 3' άκρο του με ένα μόριο-αποσβέστη (quencher molecule). Όταν κατά την PCR οι εκκινητές συνδέονται με την αλληλουχία-στόχο, τότε το ολιγονουκλεοτίδιο-ανιχνευτής (probe) καταστρέφεται από τη DNA πολυμεράση, λόγω της ταυτόχρονης δράσης της ως 5-εξωνουκλεάση. Μέσω της δράσης αυτής απομακρύνεται το φθορίζον μόριο-ανταποκριτής από το μόριο-αποσβέστη, με αποτέλεσμα την παρουσία σήματος φθορισμού, το οποίο και αυξάνεται ανάλογα με την αρχική ποσότητα του DNA στο δείγμα. Ως μόριο ανταποκριτής μπορεί να χρησιμοποιηθεί η 6-καρβοξυ-φλουορεσκεΐνη (FAM), η 4,7,2',4',5',7'-εξαχλωρο-6-καρβοξυ-φλουορεσκεΐνη ή η 4,7,2',7'-τετραχλωρο-6-καρβοξυ-φλουορεσκεΐνη (TET), ενώ ως μόριο-αποσβέστης η ροδαμίνη. Η μεθοδολογία αυτή έχει πλέον καθιερωθεί και ειδική οργανολογία έχει αναπτυχθεί για το σκοπό αυτό όπως οι θερμικοί κυκλοποιητές Lightcycler®.

Στη συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Lightcycler® 480 που αποτελεί έναν ταχύ θερμικό κυκλοποιητή με ικανότητα παρακολούθησης της PCR σε

πραγματικό χρόνο (real time). Έτσι, επιτρέπει την ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των νουκλεϊκών οξέων-στόχων.

Ο θερμικός κυκλοποιητής αποτελεί ένα γρήγορο, κλειστό σύστημα, στο οποίο μπορούν να διεκπεραιωθούν αντιδράσεις αλυσιδωτής πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time). Το γεγονός αυτό διευκολύνει την άμεση ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του επιθυμητού νουκλεϊκού οξέος, είτε με την προσθήκη φθορίζουσας χρωστικής που προσδένεται ειδικά σε δίκλιωνα μόρια γενετικού υλικού, είτε με την προσθήκη ιχνηθετιμένων μορίων σημασμένων με φθορίζουσες ουσίες. Κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να γίνει άμεσα ποσοτικοποίηση του παραγόμενου γενετικού υλικού και με το πέρας της αντίδρασης, ανάλυση των Καμπυλών Τήξεως (Melting Curves) προκειμένου να εντοπιστούν οι μεταλλάξεις και οι πολυμορφισμοί. Στον LC480 μπορούν να αναλυθούν ταυτόχρονα 96 ή 384 δείγματα ανάλογα με την υποδοχή πλακών που εφαρμόζεται στο σύστημα και σε όγκους από 20 έως 100 µl και από 5 έως 20 µl αντίστοιχα. Τα κύρια σημεία του συστήματος του θερμικού κυκλοποιητή, είναι τα επόμενα:

1. Μονάδα του θερμικού κυκλοποιητή, η οποία συμπληρώνεται από την θέση υποδοχής των πλακών πολλαπλών θέσεων (96 θέσεις ή 384 θέσεις) που φέρουν συγκεκριμένο bar-code, και το scanner για το bar-code των πλακών.
2. Μονάδα ανίχνευσης, η οποία αποτελείται από την λάμπα Xenon, την οπτική μονάδα και την CCD κάμερα.

Ο θερμικός κυκλοποιητής χρησιμοποιεί 5 φίλτρα διέγερσης και 6 φίλτρα εκπομπής, τα οποία μπορούν να συνδυασθούν ελεύθερα ώστε να επιτρέπουν τη βέλτιστη διέγερση των φθορίζουσών ουσιών και την ακριβή μέτρηση των εκπεμπόμενων σημάτων φθορισμού. Ο παρακάτω πίνακας 2 παρουσιάζει τους συνδυασμούς των φίλτρων διέγερσης και εκπομπής για τις προτεινόμενες φθορίζουσες ουσίες που χρησιμοποιούνται στις διάφορες PCR.

Βασικό πλεονέκτημα του Lightcycler[®] αποτελεί το γεγονός ότι ο παραγόμενος φθορισμός κάθε αντίδρασης παρακολουθείται σε τακτά χρονικά διαστήματα. Ακόμα, για την ολοκλήρωση της αντίδρασης (30 κύκλοι) απαιτούνται 30 λεπτά, χρόνος εξαιρετικά μικρός που συγκρινόμενος με την “κλασική” PCR είναι περίπου 12 φορές μικρότερος και έτσι επιταχύνει ακόμα περισσότερο την όλη διαδικασία.

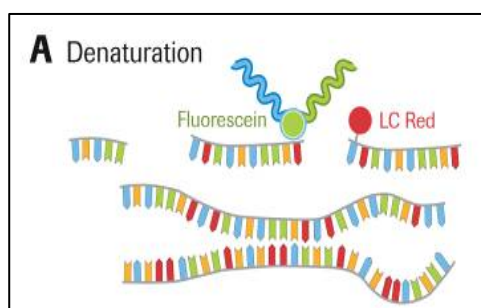
Φθορίζουσες ουσίες	Φίλτρο διέγερσης (nm)	Φίλτρο εκπομπής (nm)	Τύπος ανίχνευσης
Lightcycler [®] Cyan 500	450	500	Hydrolysis Probes (Reporter)
SYBR Green I	483	533	SYBR Green I
Fluorescein (Fluos/FAM)	483	533	Hydrolysis Probes (Reporter) HybProbe Probes (Donor) SimpleProbe Probes
HEX (VIC)	523	568	Hydrolysis Probes (Reporter) HybProbe Probes (Acceptor)
Lightcycler [®] Red 610	558	610	Hydrolysis Probes (Reporter) HybProbe Probes (Acceptor)
Lightcycler[®] Red 640	558	640	Hydrolysis Probes (Reporter) HybProbe Probes (Acceptor)
Cy5	615	670	Hydrolysis Probes (Reporter) HybProbe Probes (Acceptor)

Πίνακας 2: Προτεινόμενες φθορίζουσες ουσίες για PCR

2.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΟΥ COMT

Στη συγκεκριμένη μελέτη για την ανάλυση του γονιδίου COMT, χρησιμοποιήθηκαν ανιχνευτές υβριδισμού τύπου HybProbe (hybridization probes) οι οποίοι συνίστανται από δύο διαφορετικά ολιγονουκλεοτίδια-ανιχνευτές που υβριδίζονται με μία εσωτερική αλληλουχία του τμήματος του DNA που ενισχύεται κατά τη διάρκεια της φάσης υβριδοποίησης της PCR. Ο ένας ανιχνευτής ιχνηθετείται στο 5' άκρο με ένα κατάλληλο αποδέκτη φθορισμού (Lightcycler® Red 640, χρωστική που εκπέμπει φως στην κόκκινη περιοχή του φάσματος-χαμηλότερη ενέργεια/μεγαλύτερο μήκος κύματος) και για να αποφύγει την επέκταση, τροποποιείται στο 3' άκρο με φωσφορυλίωση. Ο δεύτερος ανιχνευτής ιχνηθετείται στο 3' άκρο με τον δότη χρωστικής, τη φλουορεσκεΐνη (Fluos). Μόνο μετά την υβριδοποίηση, τα δύο probes είναι σε στενή εγγύτητα, με αποτέλεσμα τη μεταφορά ενέργειας φθορισμού (FRET, fluorescence resonance energy transfer) μεταξύ των δύο φθορίζοντων.

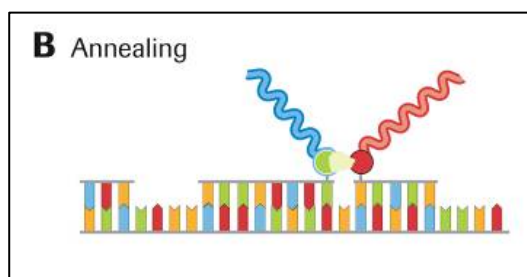
Κατά τη διάρκεια FRET, η φλουορεσκεΐνη, ο δότης φθορισμού, διεγείρεται από την πηγή φωτός του Lightcycler® 480 Instrument (483nm- το μέγιστο απορρόφησης της φλουορεσκεΐνης) και μέρος της ενέργειας διέγερσης μεταφέρεται στο Lightcycler® Red 640, στον αποδέκτη φθορισμού. Με τη μεταφορά της ενέργειας στο Lightcycler® Red 640, ο φθορισμός της φλουορεσκεΐνης αποσβήνεται και το Lightcycler® Red 640 διεγείρεται. Ο εκπεμπόμενος φθορισμός του αποδέκτη φθορισμού είναι αυτός που μετράται. Η ποσότητα του φθορισμού που εκπέμπεται είναι ευθέως ανάλογη της ποσότητας του DNA στόχου που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της PCR.



εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση της φάσης της αποδιάταξης του DNA (denaturation).

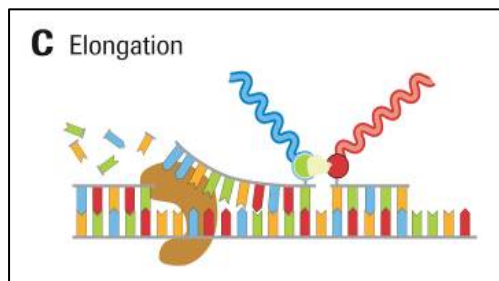
Στην παραπάνω εικόνα (2), το HybProbe probe (δότης) ιχνηθετήθηκε με φλουορεσκεΐνη στο 3' άκρο, ενώ το HybProbe probe (αποδέκτης) ιχνηθετήθηκε στο 5' άκρο με Lightcycler® Red 640. Κατά τη διάρκεια της φάσης αποδιάταξης, δεν πραγματοποιείται υβριδοποίηση. Από τη στιγμή που η απόσταση μεταξύ των μη

συνδεδεμένων probes εμποδίζει τη μεταφορά ενέργειας μεταξύ των δύο χρωστικών, δεν ανιχνεύεται φθορισμός σε αυτήν τη φάση.



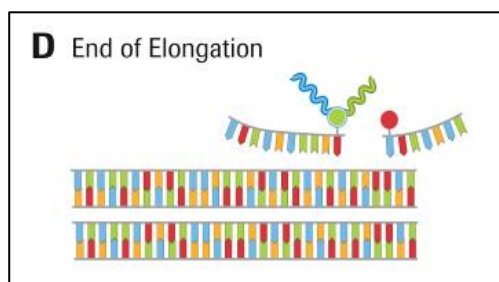
εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της φάσης υβριδίσωσης (annealing).

Κατά τη διάρκεια της φάσης υβριδίσωσης (annealing), τα δύο probes υβριδοποιούνται με το τμήμα του DNA που ενισχύεται και αλληλοπροσεγγίζονται στενά (εικόνα 3). Ο δότης χρωστικής διεγείρεται από την πηγή φωτός του οργάνου και προκαλεί την εκπομπή ενέργειας. Αντί να εκπέμπεται ως φθορισμός, η εκπεμπόμενη ενέργεια διεγείρει τον αποδέκτη φθορισμού. Ο φθορισμός που εκπέμπεται από τον αποδέκτη μετράται στο τέλος κάθε βήματος υβριδίσωσης, όταν η ένταση φθορισμού είναι η μέγιστη (εικόνα 4).



εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση της φάσης της επιμήκυνσης του DNA (elongation).

Μετά τη φάση υβριδοποίησης, η θερμοκρασία αυξάνει και τα HybProbe probes απομακρύνονται κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης (elongation). Στο τέλος αυτής της φάσης, το προϊόν της PCR είναι πλέον δίκλωνο και τα απομακρυσμένα HybProbe probes είναι μακριά για να επιτρέψουν την μεταξύ τους μεταφορά ενέργειας (εικόνα 5).



εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση της φάσης του τέλους της επιμήκυνσης (end of elongation).

2.3.1 Προετοιμασία της αντίδρασης της PCR

Το Master Mix ετοιμάζεται συνολικά για όλα τα δείγματα (Πίνακας 1), και μοιράζεται κατόπιν ανά 15μl σε κάθε πηγαδάκι του Lightcycler® 480 Multiwell Plate 96 (Εικόνα 6), ενώ στο τέλος προστίθεται με μια μικρή ανάδευση το εκάστοτε εξεταζόμενο δείγμα DNA.

Ο όγκος του DNA που απαιτείται για την αντίδραση PCR είναι 5μl έτσι ώστε να έχουμε τελικό όγκο αντίδρασης 20μl.

Ως αρνητικός μάρτυρας ελέγχου (negative control) χρησιμοποιούνται 5μl PCR grade H₂O (που δεν ενισχύεται) αντί του DNA, ως δικλείδα ασφαλείας ότι δεν υπάρχει επιμόλυνση (contamination) με ξένο DNA.

Αφού ολοκληρωθεί η τοποθέτηση των αντιδραστηρίων, ολόκληρο το plate καλύπτεται με μία αυτοκόλλητη προστατευτική ταινία ασφαλείας (Lightcycler® 480 Sealing Foil) και έπειτα τοποθετείται σε μία φυγόκεντρο Plate Spin για 10 δευτερόλεπτα, ώστε όλα τα αντιδραστήρια να συγκεντρωθούν στο πυθμένα του. Με τη διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται η ανάδευση του μίγματος σε κάθε ‘πηγαδάκι’, οπότε το plate είναι πλέον έτοιμο να μπει στο Lightcycler® 480 και να ξεκινήσει η PCR.



Εικόνα 6: Πλάκες που υποδέχονται τα δείγματα.

2.3.2 Προγραμματισμός του συνδεδεμένου με το Lightcycler® 480 Instrument υπολογιστή

Το πρωτόκολλο συνίσταται από τέσσερα βήματα προγραμματισμού (Πίν. 3)

- Denaturation: αποδιάταξη του δείγματος DNA με θέρμανση και ενεργοποίηση ενζύμων (στους 95°C για 10 λεπτά – 1 κύκλος)
- Cycling: PCR- ενίσχυση του DNA-στόχου (στους 95°C για 10 δευτερόλεπτα, στους 60°C για 10 δευτερόλεπτα και στους 72°C για 15 δευτερόλεπτα – 45 κύκλοι)
- Melting: ανάλυση των καμπυλών τήξης για ταυτοποίηση του προϊόντος της PCR που προέκυψε από το DNA-στόχο (στους 95°C για 30 δευτερόλεπτα, στους 40°C για 2 λεπτά και στους 72°C για 1 δευτερόλεπτο – 1 κύκλος)
- Cooling: ψύξη για διατήρηση των δειγμάτων μετά την ολοκλήρωση της PCR (στους 40°C για 30 δευτερόλεπτα – 1 κύκλος)

Πίνακας 3:

Προγραμματισμός του Lightcycler® 480 Instrument για το γονίδιο COMT

Program	Denaturation	Cycling			Melting			Cooling
Analysis Mode	None	Quantification			Melting Curves			None
Cycles	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	-	00:00:30
Ramp rate	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Acquisition Mode	None	None	Single	None	None	None	Continuous	None
Acquisitions	-	-	-	-	-	-	3	-

Παρατηρήσεις:

Κάθε βήμα προγραμματισμού συνίσταται από μία ή περισσότερες θερμοκρασίες-στόχο (target). Η θερμοκρασία-στόχο (target) καθορίζει τη θερμοκρασία που επιθυμούμε να φτάσουμε στη συγκεκριμένη διαδικασία του πειράματος, η διάρκεια (Hold) δηλώνει το χρόνο που θα εφαρμοστεί η συγκεκριμένη θερμοκρασία και η ταχύτητα (Ramp Rate) με την οποία επιτυγχάνουμε τη συγκεκριμένη θερμοκρασία. Τέλος η μέθοδος

ανάκτησης (Acquisition Mode) υποδηλώνει τη συχνότητα με την οποία συγκεντρώνονται στοιχεία για το πείραμα.

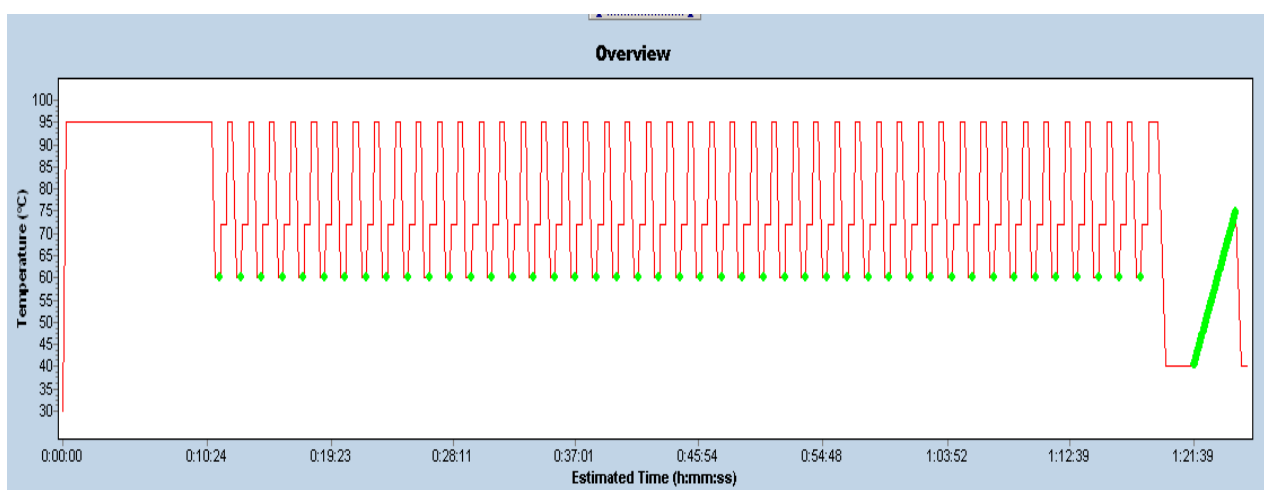
Στο πείραμά μας αναφέρουμε ότι:

1. Κατά το αρχικό στάδιο της αποδιάταξης του DNA, η θερμοκρασία θα ανέβει με ρυθμό 4.4° C/s έως ότου να φτάσει τους 95°C, όπου θα παραμείνει για 5 λεπτά. Θα πραγματοποιηθεί μόνο ένας κύκλος σε αυτό το στάδιο και δεν θα συγκεντρωθούν στοιχεία (Acquisition Mode = None). Σε αυτή τη θερμοκρασία τα δίκλινα μόρια DNA αποχωρίζονται τελείως και έτσι παράγονται μονόκλωνες αλυσίδες που θα χρησιμεύσουν ως εκμαγεία για τους εκκινητές και την Taq DNA πολυμεράση.
2. Στο στάδιο ενίσχυσης του DNA στόχου η θερμοκρασία αρχικά αυξάνει στους 95°C με ρυθμό 4.4°C/s, όπου παραμένει για 10 δευτερόλεπτα, έτσι ώστε να επιτρέψει στο DNA να αποδιαταχθεί. Η θερμοκρασία-στόχος του επόμενου βήματος εξαρτάται από τη από τη θερμοκρασία που απαιτεί ο εκκινητής. Στο πείραμά μας η θερμοκρασία πέφτει στους 60°C με ρυθμό 2.2°C/s και διατηρείται για 10 δευτερόλεπτα. Στη διάρκεια αυτού του σταδίου οι εκκινητές υβριδοποιούνται με τις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στα μόρια του μονόκλωνου DNA. Στη συνέχεια η θερμοκρασία αυξάνει στους 72°C με ρυθμό 4.4°C/s και παραμένει για 15 δευτερόλεπτα. Στη διάρκεια αυτού του σταδίου συντίθεται το DNA. Η θερμοκρασία των 72°C αποτελεί περιοχή βέλτιστης θερμοκρασίας για την θερμοσταθερή Taq DNA πολυμεράση, ώστε να εκτελέσει τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσού DNA. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται 45 φορές, έτσι ώστε να ενισχυθεί η αλληλουχία-στόχος. Στο στάδιο αυτό η μέθοδος ανάκτησης στοιχείων έχει προσδιοριστεί ως μία, δηλώνοντας ότι τα στοιχεία φθορισμού ανακτώνται μία φορά στο τέλος υβριδοποιήσεως κάθε κύκλου.
3. Μετά την ενίσχυση του DNA ακολουθεί η καμπύλη τήξεως η οποία μας βοηθάει να εκτιμήσουμε το ενισχυμένο προϊόν της PCR. Το DNA αρχικά αποδιάτασσεται διατηρώντας τη θερμοκρασία στους 95°C για 30 δευτερόλεπτα, και στη συνέχεια ανασυνδέεται (υβριδιώνεται) χαμηλώνοντας τη θερμοκρασία στους 40°C για 2 λεπτά. Στη συνέχεια το σήμα φθορισμού παρακολουθείται

συνεχώς καθώς αυξάνει η θερμοκρασία λίγο-λίγο. Καθώς το DNA αποδιατάσσεται (τήκεται), τόσο μειώνεται ο φθορισμός.

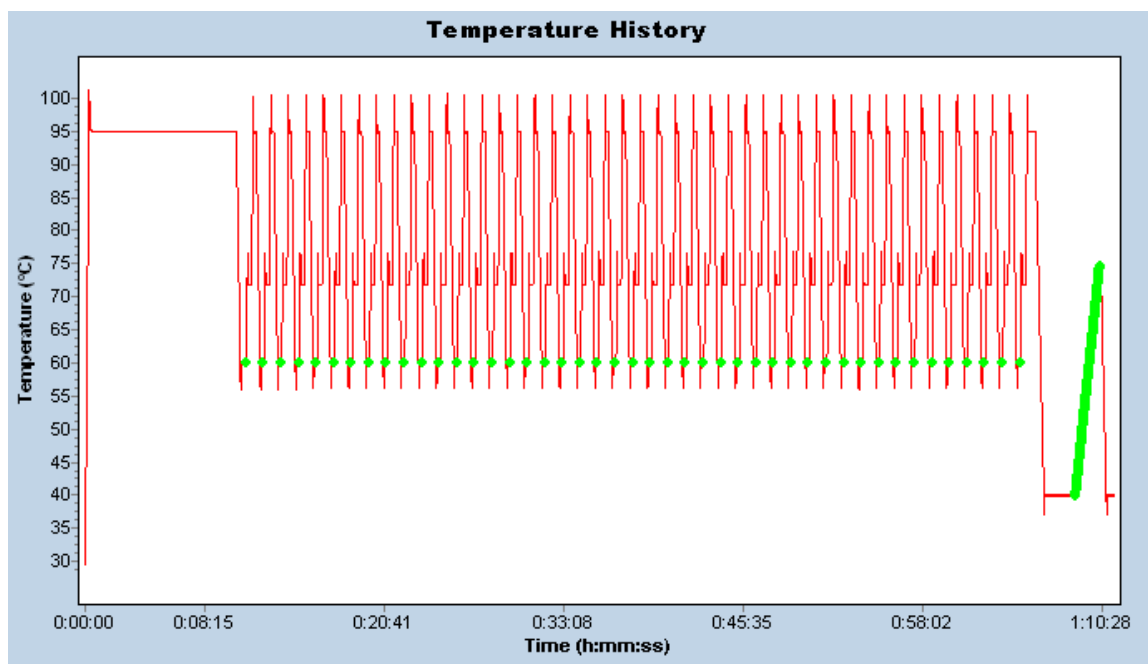
4. Το τελευταίο στάδιο είναι το στάδιο της ψύξης για να ολοκληρωθεί το πείραμα.

Μετά το πέρας της ανάλυσης δίνεται η δυνατότητα να εμφανισθεί το αναλυτικό διάγραμμα με το ιστορικό των θερμοκρασιών που εφαρμόστηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος (εικόνα 7),(εικόνα 8) καθώς και το αναλυτικό διάγραμμα με το ιστορικό φθορισμού (εικόνα 9).



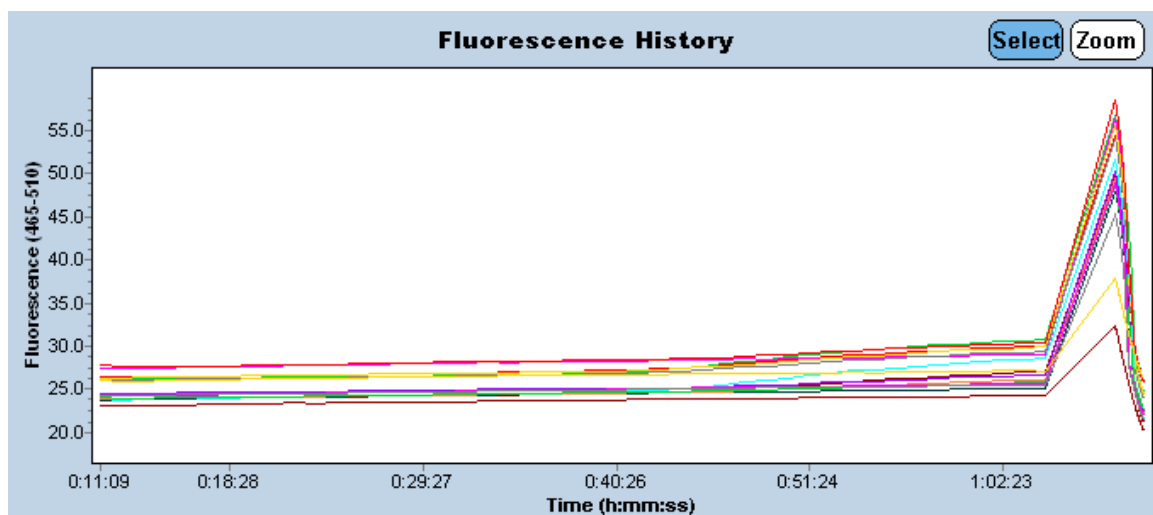
εικόνα 7.

Αναλυτική παρουσίαση όλων των θερμοκρασιακών μεταβολών σε κάθε κύκλο για το σύνολο των κύκλων που απαιτούνται για την διεκπεραίωση της PCR με βάση τον προγραμματισμό του θερμικού κυκλοποιητή.



εικόνα 8.

Με το πέρας της ανάλυσης στον θερμικό κυκλοποιητή εμφανίζεται το αναλυτικό διάγραμμα με το ιστορικό των θερμοκρασιών που εφαρμόστηκαν στο πείραμα που έγινε.



εικόνα 9.

Με το πέρας της ανάλυσης στον θερμικό κυκλοποιητή εμφανίζεται το αναλυτικό διάγραμμα με το ιστορικό φθορισμού στο πείραμα που έγινε.

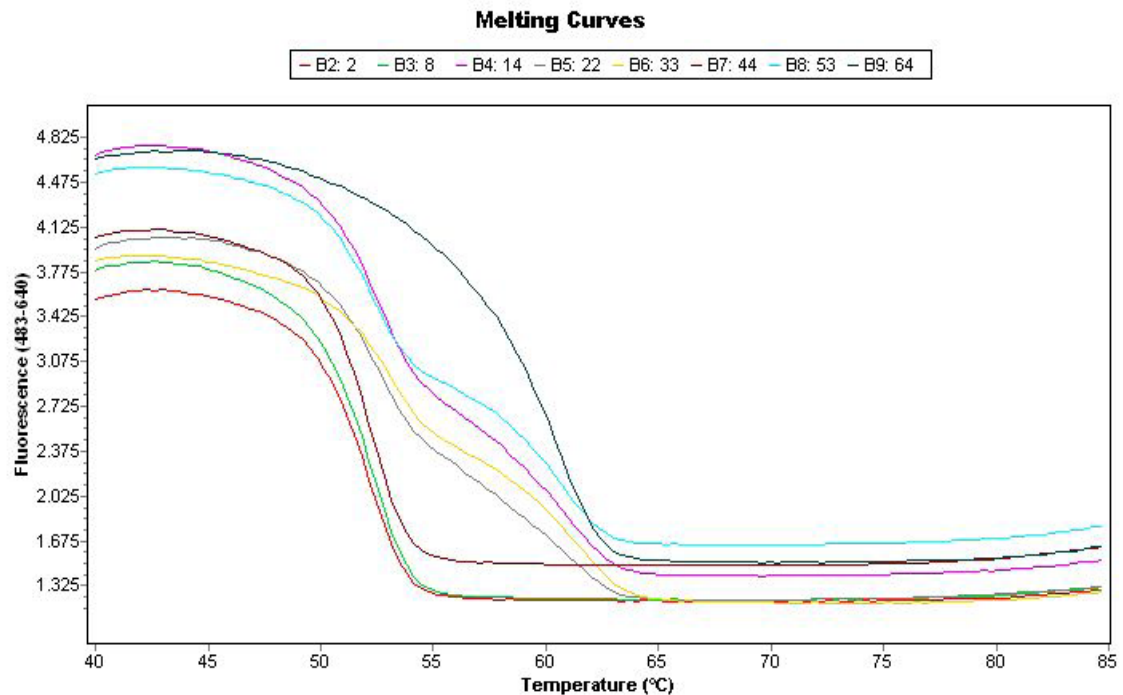
2.3.3 Ερμηνεία Μετρήσεων

Κάθε προϊόν της PCR χαρακτηρίζεται από το δικό του σημείο τήξης (T_m) που ορίζεται ως η θερμοκρασία στην οποία το 50% του δίκλωνου DNA έχει αποδιαταχθεί σε μονόκλωνο. Η ενέργεια που απαιτείται για να σπάσουμε τους δεσμούς υδρογόνου των βάσεων μεταξύ των δύο κλώνων του DNA εξαρτάται

- από το μήκος του DNA
- την περιεκτικότητα σε βάσεις γουανίνης και κυτοσίνης (η T_m είναι υψηλότερη όσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητα γουανίνης κυτοσίνης στο τμήμα του DNA που μελετούμε) και
- την συμπληρωματικότητά των δύο κλώνων (γεγονός που παίζει σημαντικό ρόλο όταν δημιουργούνται δίκλωνες αλυσίδες DNA, που αποτελούνται από τον ανιχνευτή και τον ένα κλώνο της αλυσίδας DNA που μελετάμε)

Συνεπώς, ένα προϊόν που έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κυτοσίνη και γουανίνη, καθώς και μεγαλύτερο μήκος κλώνων, θα απαιτεί υψηλότερη θερμοκρασία για την αποδιάταξή του.

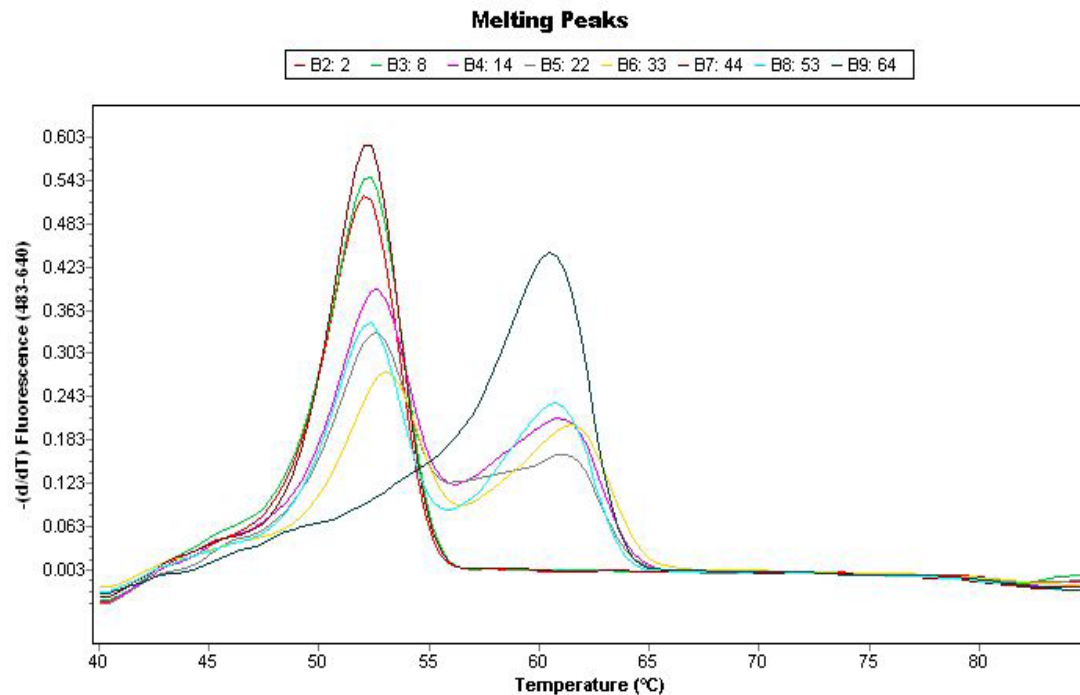
Η τήξη κάθε προϊόντος της PCR παρακολουθείται μετρώντας τη μείωση του φθορισμού εξαιτίας της τήξης των ανιχνευτών (probes) και απομάκρυνσης από το DNA στόχο που πραγματοποιείται με την αύξηση της θερμοκρασίας (Εικόνα 10). Δύο διαφορετικά προϊόντα, με διαφορετικούς πολυμορφισμούς θα διαφέρουν στα αντίστοιχα σημεία τήξεως. Υβριδοποιημένα DNA/probes που δεν έχουν ταιριάζει σωστά, λόγω κάποιου σημειακού νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού, αποσταθεροποιούνται και τήκονται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από τα τέλεια ταιριασμένα υβρίδια, οπότε χαρακτηρίζονται από μικρότερο σημείο τήξεως κατά τη διάρκεια της ανάλυσης των καμπυλών τήξεως (melting curve).



Εικόνα 10: Καμπύλες Τήξης

Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε ο σχεδιασμός probes κατάλληλων για υβριδοποίηση με τα μεταλλαγμένα προϊόντα της PCR, με αποτέλεσμα τα μη μεταλλαγμένα (wild type) να μην υβριδοποιούνται τέλεια, οπότε τήκονται σε χαμηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με τα ομόζυγα μεταλλαγμένα (mutant) που τήκονται σε υψηλότερη θερμοκρασία. Το ετερόζυγο παρουσιάζει δύο σημεία τήξης αφού περιέχει δύο διαφορετικά αλληλόμορφα, συνεπώς θα παρουσιάζει και δύο κορυφές τήξης (melting peaks).

Τα δεδομένα του σήματος φθορισμού καταγράφηκαν κατά την απομάκρυνση του σημασμένου probe από το ενισχυμένο τμήμα (Εικόνα 11). Αυτό παρουσιάζεται από το λογισμικό του μηχανήματος σαν γράφημα (καμπύλες τήξης), που δείχνει τον αρνητικό λογάριθμο του φθορισμού προς την θερμοκρασία ($-dF/dT$ vs T) και παρουσιάζει για κάθε προϊόν PCR ένα ειδικό peak.



Εικόνα 11: Κορυφές Τήξης

Χάρη στην αυτοματοποίηση της μεθόδου, η ομαδοποίηση των αγνώστων δειγμάτων DNA σε wild type, hetero, mutant βασίζεται στο σχήμα από τις καμπύλες τήξης που προκύπτουν (melting curves) και όχι στο σημείο τήξεως (T_m). Το πρόγραμμα παρουσιάζει το σημείο τήξης κάθε δείγματος ως κορυφή (melting point) και έτσι γίνεται πιο εύκολη η διάκριση του προφίλ τήξης κάθε δείγματος και οι μεταξύ τους διαφορές. Δεν ήταν απαραίτητο να πραγματοποιηθούν καμπύλες αναφοράς, διότι αυτές ήταν ήδη προγραμματισμένες από τη Roche Diagnostics στο λογισμικό (software) του προγράμματος του Lightcycler® 480.

Για να εξασφαλίσουμε ότι η PCR έγινε σωστά, χωρίς επιμόλυνση με ξένο DNA, πάντα τρέχουμε και ένα αρνητικό δείγμα (negative control). Το αρνητικό δείγμα περιέχει όλα τα αντιδραστήρια εκτός από DNA. Αντί DNA χρησιμοποιούμε δις αποσταγμένο ύδωρ, το ίδιο που χρησιμοποιείται για την ανασύσταση των λυοφιλοποιημένων αντιδραστηρίων. Κατά την ανάλυση των melting curve, αυτό το δείγμα δεν πρέπει να εμφανίσει καμπύλη, διότι δεν ενισχύεται, αφού δεν περιέχει γενετικό υλικό.

2.4 ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ COMT

2.4.1 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs4680

Ο σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs4680 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22 στη θέση 19951271 σύμφωνα με τη βάση δεδομένων NCBI (National Center for Biotechnology Information) και συνίσταται από αντικατάσταση της γουανίνης G από αδενίνη A. Η γουανίνη G θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει τον φυσικό (wild) τύπο αλληλόμορφου, ενώ η αδενίνη A θεωρείται το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Η νουκλεοτιδική βάση της γουανίνης G μπορεί να αντικατασταθεί μία φορά στον ετερόζυγο τύπο (γονότυπος GA), ή δύο φορές στον ομόζυγο τύπο (γονότυπος AA), ή καθόλου στον μη μεταλλαγμένο τύπο (γονότυπος GG).

Για την ανάλυση του rs4680 πραγματοποιήθηκε PCR σε πραγματικό χρόνο (real time PCR), στο θερμικό κυκλοποιητή Lightcycler[®] 480 (Roche Diagnostics), ενώ οι εξειδικευμένοι εκκινητές (primers) και οι σημασμένοι ανιχνευτές / ιχνηθέτες (probes) σχεδιάστηκαν για τη μελέτη μας τον Olfert Landt της εταιρείας TIB MOLBIOL, που εδράζει στο Βερολίνο, βάση της υφιστάμενης βιβλιογραφίας.

Συγκεκριμένα οι primers αυτοί είναι σχεδιασμένοι για να ενισχύσουν το τμήμα του DNA που περιέχει τον rs4680. Το τμήμα αυτό του DNA που προκύπτει από τη PCR αναλύεται με τα υβριδοποιημένα probes που ανιχνεύονται με το Lightcycler[®] Red 640 (στο κανάλι 640). Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν φέρουν τις ακόλουθες αλληλουχίες που περιγράφονται στον Πίνακα 4:

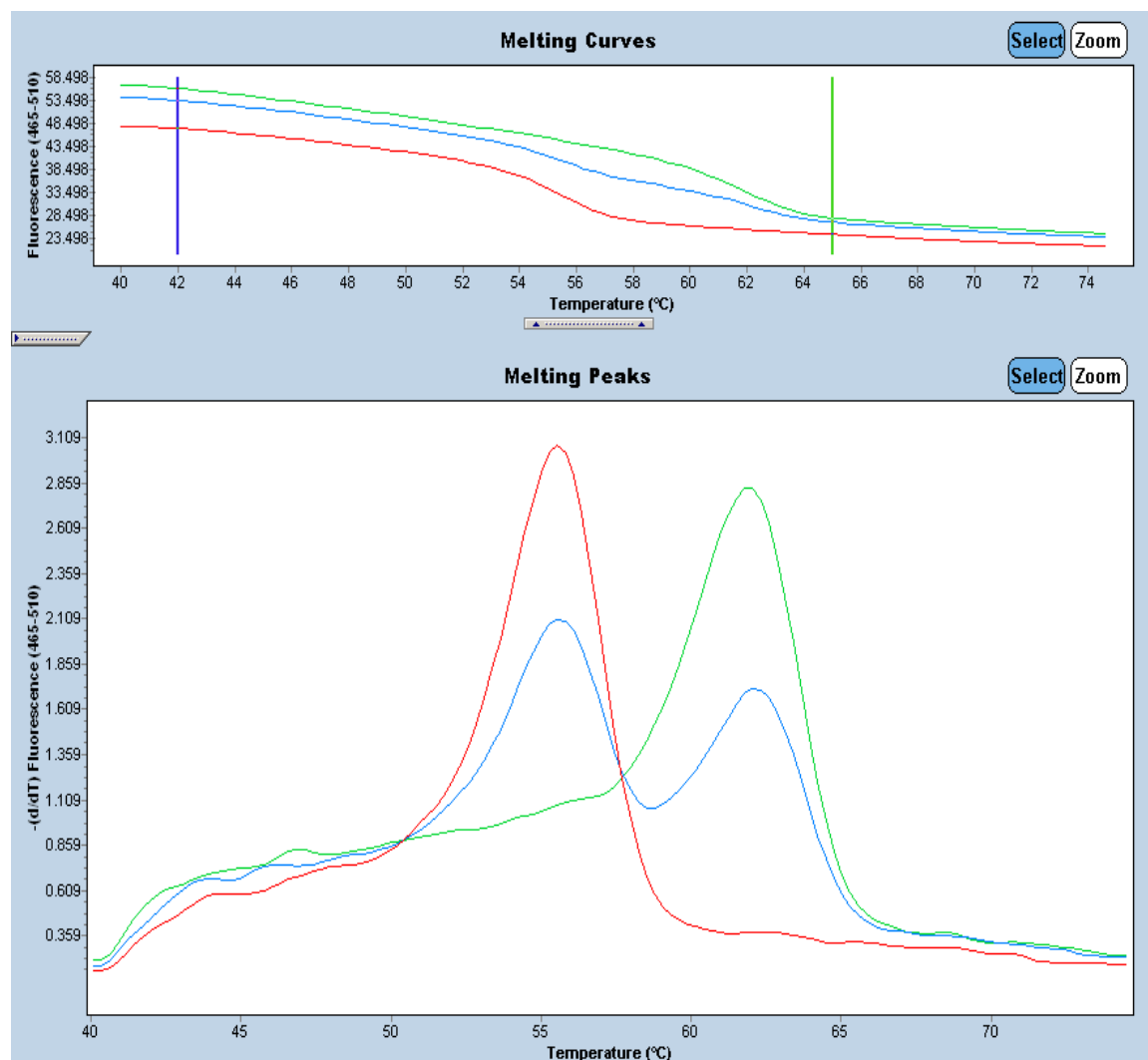
Πίνακας 4

Εκκινητές και ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του σημειακού νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού rs4680

	Rs4680	Tm
Πρόσθιος εκκινητής (5' → 3')	ggCCCTTTTCCAggTCTg	58.6°C
Ανάστροφος εκκινητής (5' → 3')	gggCCTACTgTggCTACTCA	57.2°C
Ανιχνευτής δότης	ATTTCgCTggCATgAAggACAAG-FL LightCycler [®] probe 3'-Fluorescein	62.7°C
Ανιχνευτής δέκτης	640-TgTgCATgCCTgACCCgTTgTCA p LightCycler [®] probe 5'LC dye and 3'- phosphate	67.9°C

Ο γονότυπος ταυτοποιείται τρέχοντας την καμπύλη τήξεως (melting curve) με συγκεκριμένα σημεία τήξεως (melting points T_m)(Εικόνα 12).

rs 4680



Εικόνα 12.

Κορυφές Τήξης για τον πολυμορφισμό rs4680

Στην εικόνα 12 παρουσιάζονται τρία διαφορετικά δείγματα τα οποία δίνουν τρεις διαφορετικούς γονότυπους για τον πολυμορφισμό rs4680 στο γονίδιο COMT. Αριστερά (στους 55°C) με κόκκινο χρώμα παρουσιάζεται η κορυφή της καμπύλης που ανήκει στο wild type / φυσικού τύπου δείγμα. Το άτομο αυτό φέρει δύο αλληλόμορφα φυσικού τύπου του γονιδίου. Στο δεξί μέρος της εικόνας (στους 63°C), με πράσινο χρώμα, παρουσιάζεται το δείγμα που φέρει τη μετάλλαξη/ mutant. Το άτομο αυτό φέρει δύο μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του γονιδίου. Το δείγμα το οποίο

εμφανίζεται στην εικόνα με δύο κορυφές και φέρει μπλε χρώμα, ανήκει σε ετεροζυγώτη. Αυτό σημαίνει πως το άτομο φέρει ένα αλληλόμορφο φυσικού τύπου και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Οι ετεροζυγώτες εμφανίζουν μία κορυφή στη θερμοκρασία που αντιστοιχεί στο φυσικού τύπου δείγμα και μία κορυφή που αντιστοιχεί το μεταλλαγμένο δείγμα.

2.4.2 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs165599

Ο σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs165599 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22 στη θέση 19956781 σύμφωνα με τη βάση δεδομένων NCBI (National Center for Biotechnology Information) και συνίσταται από αντικατάσταση της γουανίνης G από αδερίνη A. Η γουανίνη G θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει τον φυσικό (wild) τύπο αλληλόμορφου, ενώ η αδερίνη A θεωρείται το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Η νουκλεοτιδική βάση της γουανίνης G μπορεί να αντικατασταθεί μία φορά στον ετερόζυγο τύπο (γονότυπος GA), ή δύο φορές στον ομόζυγο τύπο (γονότυπος AA), ή καθόλου στον μη μεταλλαγμένο τύπο (γονότυπος GG).

Για την ανάλυση του rs165599 πραγματοποιήθηκε PCR σε πραγματικό χρόνο (real time PCR), στο θερμικό κυκλοποιητή Lightcycler® 480 (Roche Diagnostics), ενώ οι εξειδικευμένοι εκκινητές (primers) και οι σημασμένοι ανιχνευτές / ιχνηθέτες (probes) σχεδιάστηκαν για τη μελέτη μας τον Olfert Landt της εταιρείας TIB MOLBIOL, που εδράζει στο Βερολίνο, βάση της υφιστάμενης βιβλιογραφίας.

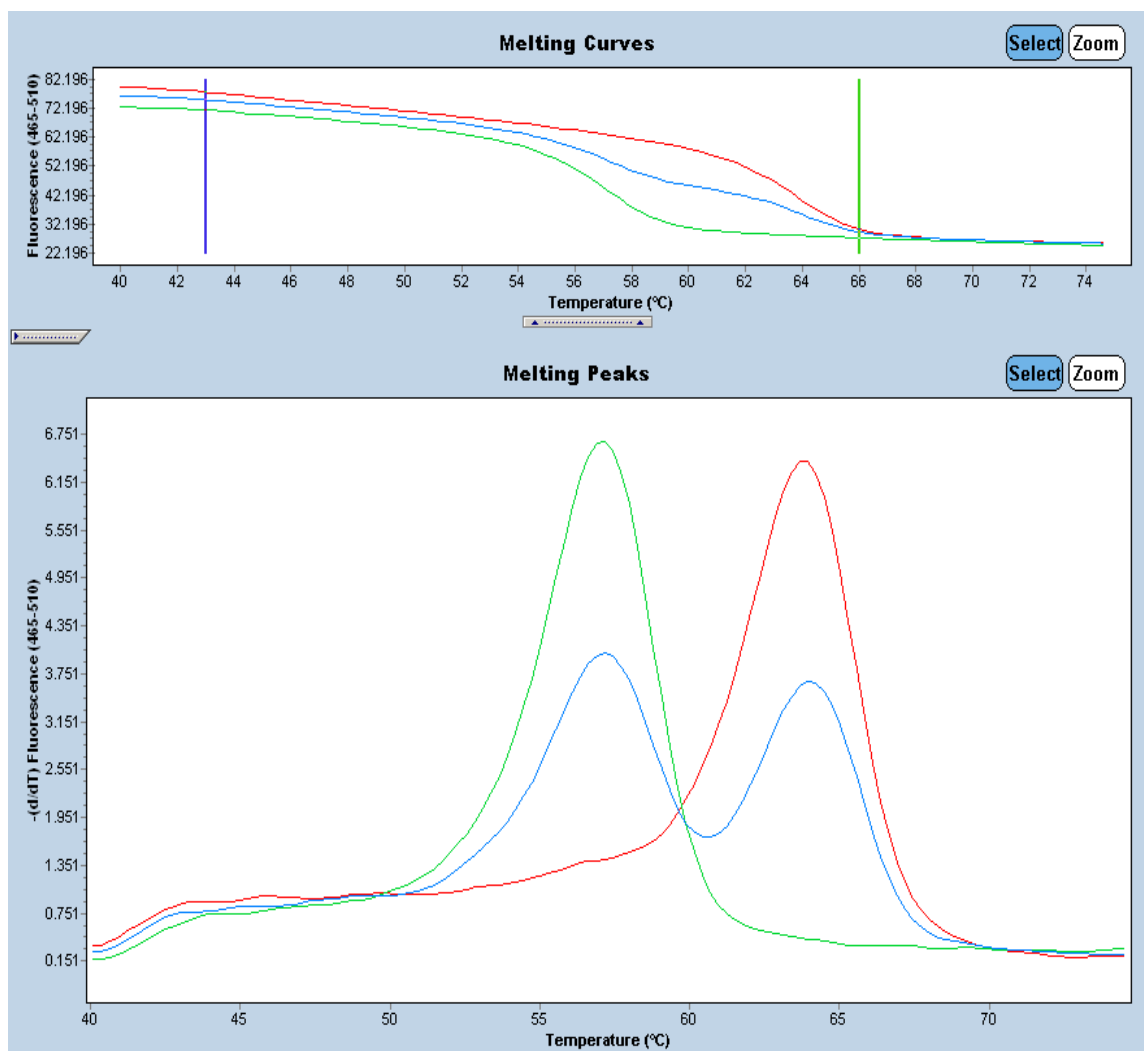
Συγκεκριμένα οι primers αυτοί είναι σχεδιασμένοι για να ενισχύσουν ένα τμήμα του DNA που περιέχει τον rs165599. Το τμήμα αυτό του DNA που προκύπτει από τη PCR αναλύεται με τα υβριδοποιημένα probes που ανιχνεύονται με το Lightcycler® Red 640 (στο κανάλι 640). Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν φέρουν τις ακόλουθες αλληλουχίες που περιγράφονται στον Πίνακα 5:

Πίνακας 5
Εκκινητές και ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του σημειακού νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού rs165599

	Rs165599	Tm
Πρόσθιος εκκινητής (5'→3')	CTTCCACTCTgTgCCACAT gggAggCAACTACaggAT	53.9°C 55.7°C
Ανάστροφος εκκινητής (5'→3')	gCACCAAACATTCAAAGCTC ACggACgCTAACgCTAAg	54.7°C 54.3°C
Ανιχνευτής δότης	ACTgCCAgCCtggAAAC-FL LightCycler® probe 3'-Fluorescein	58.6°C
Ανιχνευτής δέκτης	640-CTggAAAAATCCAAAAAgCAggTCTg p LightCycler® probe 5'LC dye and 3'-phosphate	65.3°C

Ο γονότυπος ταυτοποιείται τρέχοντας την καμπύλη τήξεως (melting curve) με συγκεκριμένα σημεία τήξεως (melting points Tm)(Εικόνα 13).

rs 165599



Εικόνα 13.

Κορυφές Τήξης για τον πολυμορφισμό rs165599

Στην εικόνα 13 παρουσιάζονται τρία διαφορετικά δείγματα τα οποία δίνουν τρεις διαφορετικούς γονότυπους για τον πολυμορφισμό rs 165599 στο γονίδιο COMT. Αριστερά (στους 58⁰C) με πράσινο χρώμα παρουσιάζεται η κορυφή της καμπύλης που ανήκει στο wild type / φυσικού τύπου δείγμα. Το άτομο αυτό φέρει δύο αλληλόμορφα φυσικού τύπου του γονιδίου. Στο δεξί μέρος της εικόνας (64⁰C), με κόκκινο χρώμα, παρουσιάζεται το δείγμα που φέρει τη μετάλλαξη/ mutant. Το άτομο

αυτό φέρει δύο μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του γονιδίου. Το δείγμα το οποίο εμφανίζεται στην εικόνα με δύο κορυφές και φέρει μπλε χρώμα, ανήκει σε ετεροζυγότη. Αυτό σημαίνει πως το άτομο φέρει ένα αλληλόμορφο φυσικού τύπου και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Οι ετεροζυγώτες εμφανίζουν μία κορυφή στη θερμοκρασία που αντιστοιχεί στο φυσικού τύπου δείγμα και μία κορυφή που αντιστοιχεί το μεταλλαγμένο δείγμα.

2.4.3 Ανάλυση του σημειακού πολυμορφισμού rs 737865

Ο σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs737865 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22 στη θέση 19930121 σύμφωνα με τη βάση δεδομένων NCBI (National Center for Biotechnology Information) και συνίσταται από αντικατάσταση της θυμίνης T από κυτοσίνη C. Η θυμίνη T θεωρείται ο άγριος (wild) τύπος αλληλόμορφο, ενώ η κυτοσίνη C θεωρείται το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Η νουκλεοτιδική βάση της θυμίνης T μπορεί να αντικατασταθεί μία φορά στον ετερόζυγο τύπο (γονότυπος TC), ή δύο φορές στον ομόζυγο τύπο (γονότυπος CC), ή καθόλου στον μη μεταλλαγμένο τύπο (γονότυπος TT).

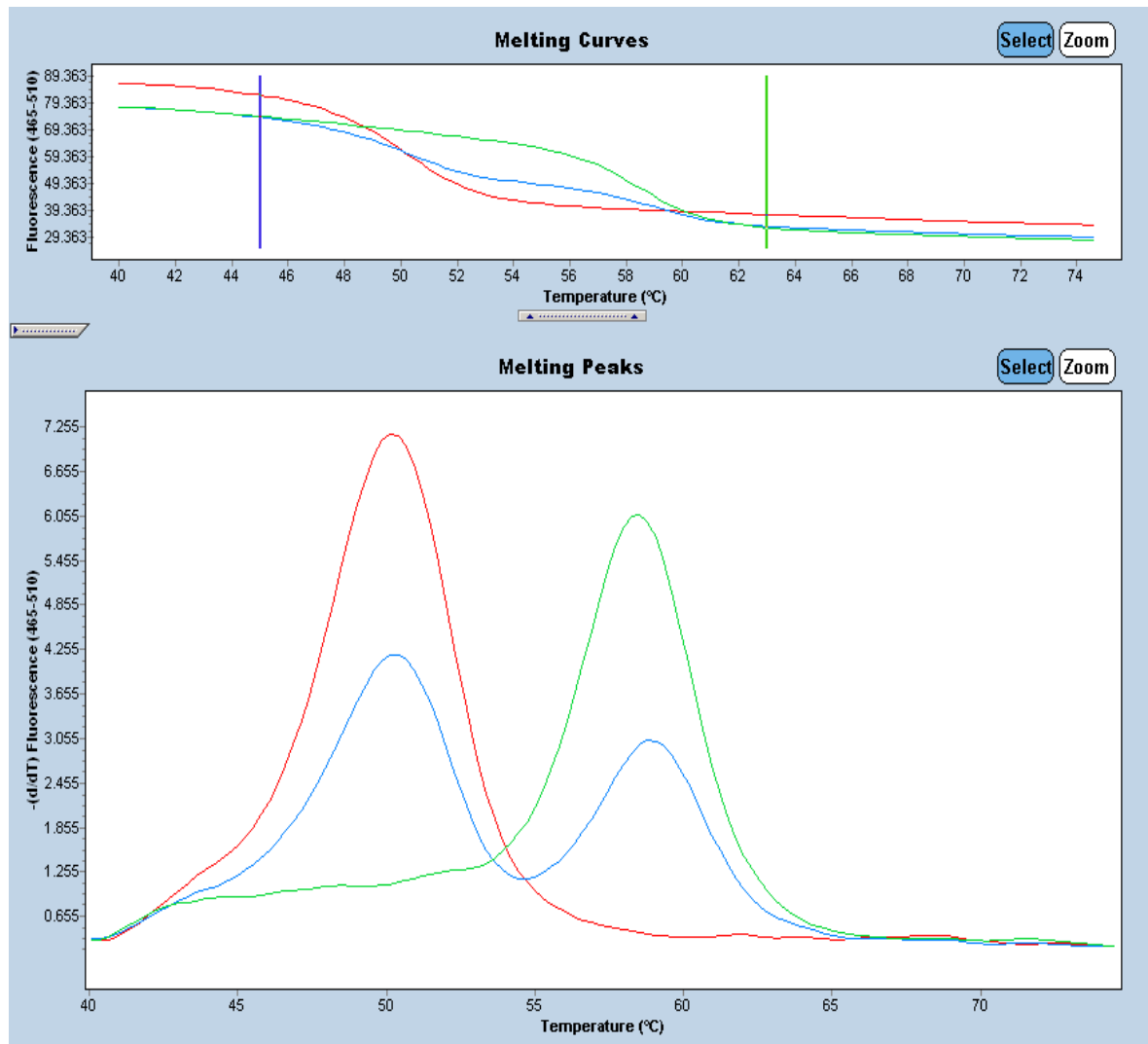
Για την ανάλυση του rs737865 πραγματοποιήθηκε PCR σε πραγματικό χρόνο (real time PCR), στο θερμικό κυκλοποιητή Lightcycler® 480 (Roche Diagnostics), ενώ οι εξειδικευμένοι εκκινητές (primers) και οι σημασμένοι ανιχνευτές / ιχνηθέτες (probes) σχεδιάστηκαν για τη μελέτη μας τον Olfert Landt της εταιρείας TIB MOLBIOL, που εδράζει στο Βερολίνο, βάση της υφιστάμενης βιβλιογραφίας.

Συγκεκριμένα οι primers αυτοί είναι σχεδιασμένοι για να ενισχύσουν ένα τμήμα του DNA που περιέχει τον rs737865. Το τμήμα αυτό του DNA που προκύπτει από τη PCR αναλύεται με τα υβριδοποιημένα probes που ανιχνεύονται με το Lightcycler® Red 640 (στο κανάλι 640). Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν φέρουν τις ακόλουθες αλληλουχίες που περιγράφονται στον Πίνακα 6:

Πίνακας 6
Εκκινητές και ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του σημειακού
νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού rs165599

	Rs737865	Tm
Πρόσθιος εκκινητής (5' → 3')	gCAgggCAgCTCCTACg CCAgTTTTTCTCATgTTgTCAgTAg	57.7°C 58.8°C
Ανάστροφος εκκινητής (5' → 3')	CACgTgggAATgTTAgAgAAAgg gAAgTCACTCCgggCCT	58.4°C 55.7°C
Ανιχνευτής δότης	CAGgACACAAAAACCCCTg-FL LightCycler® probe 3'-Fluorescein	56.1°C
Ανιχνευτής δέκτης	640-CTggAAAAATCCAAAAAgCAGgTCTg p LightCycler® probe 5'LC dye and 3'-phosphate	63.5°C

Ο γονότυπος ταυτοποιείται τρέχοντας την καμπύλη τήξεως (melting curve) με συγκεκριμένα σημεία τήξεως (melting points Tm)(Εικόνα 14).



εικόνα 14.

Κορυφές Τήξης για τον πολυμορφισμό rs737865

Στην εικόνα 14 παρουσιάζονται τρία διαφορετικά δείγματα τα οποία δίνουν τρεις διαφορετικούς γονότυπους για τον πολυμορφισμό rs 737865 στο γονίδιο COMT. Αριστερά (στους 50⁰C) με κόκκινο χρώμα παρουσιάζεται η κορυφή της καμπύλης που ανήκει στο wild type / φυσικού τύπου δείγμα. Το άτομο αυτό φέρει δύο αλληλόμορφα φυσικού τύπου του γονιδίου. Στο δεξί μέρος της εικόνας (στους 59⁰ C), με πράσινο χρώμα, παρουσιάζεται το δείγμα που φέρει τη μετάλλαξη/ mutant. Το άτομο αυτό φέρει δύο μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του γονιδίου. Το δείγμα το οποίο εμφανίζεται στην εικόνα με δύο κορυφές και φέρει μπλε χρώμα, ανήκει σε ετεροζυγώτη. Αυτό σημαίνει πως το άτομο φέρει ένα αλληλόμορφο φυσικού τύπου

και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο. Οι ετεροζυγώτες εμφανίζουν μία κορυφή στη θερμοκρασία που αντιστοιχεί στο φυσικού τύπου δείγμα και μία κορυφή που αντιστοιχεί το μεταλλαγμένο δείγμα.

2.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτη και σχετική συχνότητα. Για τη σύγκριση, συνεχών μεταβλητών, μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, έγινε χρήση του κριτηρίου Student's t-test, ενώ ο έλεγχος των συσχετίσεων κατηγορικών μεταβλητών έγινε με χρήση του κριτηρίου χ^2 -τετράγωνο. Το κριτήριο χ^2 -τετράγωνο χρησιμοποιήθηκε επίσης για τον υπολογισμό των αποκλίσεων από την ισορροπία Hardy-Weinberg, για κάθε έναν εκ των τριών πολυμορφισμών, και χωριστά στις ομάδες των ασθενών και των μαρτύρων. Οι συχνότητες ανά γονότυπο και αλληλίο συγκρίθηκαν αρχικά μεταξύ των δύο ομάδων με το κριτήριο χ^2 -τετράγωνο. Εν συνεχεία, υπολογίστηκαν οι σχετικοί λόγοι (odds ratios), με τη βοήθεια λογαριθμιστικής παλινδρόμησης (logistic regression), σύμφωνα με το επικρατές (dominant), το υπολειπόμενο (recessive), το προσθετικό (additive) μοντέλο καθώς και σύμφωνα με την ανάλυση κατά αλληλίο. Επιλέχθηκε η χρήση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης δεδομένου ότι η σχιζοφρένεια που αποτελεί την εξαρτημένη μεταβλητή της μελέτης είναι σε δίτιμη μορφή. Οι αντίστοιχες τιμές των p-values προέκυψαν από το Wald test για το επικρατές και το υπολειπόμενο μοντέλο καθώς και την ανάλυση κατά αλληλίο, ενώ το Armitage test for trend χρησιμοποιήθηκε για το προσθετικό μοντέλο. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν επιπλέον αναλύσεις ανά απλότυπο, όπου δημιουργήθηκαν όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί απλοτύπων και οι διαφορές στις συχνότητες τους μεταξύ σχιζοφρενών ασθενών και υγιών μαρτύρων εκτιμήθηκαν με το κριτήριο χ^2 -τετράγωνο. Για περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης απλοτύπων και σχιζοφρένειας, εφαρμόστηκε ανάλυση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης, ώστε να εκτιμηθεί ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου σε κάθε έναν από τους οκτώ πιθανούς απλοτύπους. Τέλος μελετήθηκαν οι συνδυασμοί γονοτύπων, από τους οποίους προέκυψαν οι απλότυποι T/A/A και T/G/G, με τη βοήθεια λογαριθμιστικής παλινδρόμησης. Το στατιστικό πακέτο SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC, version 9.1) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων. Όλες οι τιμές p βασίστηκαν σε δίπλευρους ελέγχους και συγκρίθηκαν με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ίσο με το 5%.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Ισορροπία Hardy-Weinberg

Ο όρος Hardy-Weinberg προέκυψε από την κοινή διαπίστωση των G.H. Hardy και W.Weinberg σύμφωνα με την οποία οι σχετικές συχνότητες των αλληλομόρφων παραμένουν σταθερές από γενιά σε γενιά αν δεν διαταραχθεί κανένας παράγοντας από όσους μπορούν να επηρεάσουν την όλη διαδικασία. Η ισορροπία εκφράζεται με τη σχέση $p^2+2pq+q^2=1$. Έστω A το επικρατές αλληλόμορφο, α το υπολειπόμενο αλληλόμορφο και έστω ότι οι συχνότητες τους είναι p και q ; $\text{freq}(A) = p$; $\text{freq}(a) = q$; $p + q = 1$. Εάν ο υπό διερεύνηση πληθυσμός είναι σε ισορροπία, τότε $\text{freq}(AA) = p^2$ για τους AA ομοζυγώτες του πληθυσμού, $\text{freq}(aa) = q^2$ για τους aa ομοζυγώτες και $\text{freq}(Aa) = 2pq$ για τους ετεροζυγώτες. Η τιμή 3.84 του κριτηρίου χι-τετράγωνο αντιστοιχεί στο όριο της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.05$). Αν η τιμή του χι-τετράγωνο είναι μεγαλύτερη από το 3.84, τότε υπάρχουν αρκετές ενδείξεις για απόκλιση από την ισορροπία Hardy-Weinberg.

Στους Πίνακες 1 και 2 παρουσιάζονται αναλυτικά οι τιμές των p , q και του κριτηρίου χι-τετράγωνο για την ομάδα των ασθενών και των μαρτύρων αντίστοιχα. Όπως παρατηρούμε, ο πολυμορφισμός rs4680 ήταν σε συμφωνία με την ισορροπία Hardy-Weinberg, τόσο στην ομάδα των ασθενών ($X^2=0.160$) όσο και στην ομάδα των μαρτύρων ($X^2=2.231$). Ένδειξη για απόκλιση από την ισορροπία Hardy-Weinberg εντοπίστηκε στην περίπτωση του πολυμορφισμού rs737865 στην ομάδα των ασθενών ($X^2=4.146$). Επίσης και για τον πολυμορφισμό rs165599 βρέθηκε οριακή ένδειξη για απόκλιση στην ομάδα των μαρτύρων ($X^2=5.112$).

Πίνακας 1: Αποτελέσματα ελέγχου της ισορροπίας Hardy-Weinberg στην ομάδα των 108 ασθενών: παρατηρούμενες και αναμενόμενες συχνότητες γονοτύπων, υπολογισμός των τιμών p, q και κριτηρίου χι-τετράγωνο.

Γονότυποι	Παρατηρούμενες συχνότητες	Αναμενόμενες συχνότητες	Αποτελέσματα
<i>Ασθενείς</i>			
rs737865			
T/T	44	$p^2 \cdot N = 48.669$	$p = 0.671$
T/C	57	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 47.662$	$q = 0.329$
C/C	7	$q^2 \cdot n = 11.669$	$X^2 = 4.146$
rs4680			
A/A	56	$p^2 \cdot N = 25.041$	$p = 0.481$
G/A	24	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 53.926$	$q = 0.519$
G/G	28	$q^2 \cdot n = 29.037$	$X^2 = 0.160$
rs165599			
A/A	34	$p^2 \cdot N = 38.521$	$p = 0.597$
G/A	61	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 51.958$	$q = 0.403$
G/G	13	$q^2 \cdot n = 17.521$	$X^2 = 3.271$

Πίνακας 2: Αποτελέσματα ελέγχου της ισορροπίας Hardy-Weinberg στην ομάδα των 97 μαρτύρων: παρατηρούμενες και αναμενόμενες συχνότητες γονοτύπων, υπολογισμός των τιμών p, q και κριτηρίου χι-τετράγωνο.

Γονότυποι	Παρατηρούμενες συχνότητες	Αναμενόμενες συχνότητες	Αποτελέσματα
<i>Μάρτυρες</i>			
rs737865			
T/T	37	$p^2 \cdot N = 40.271$	$p = 0.644$
T/C	51	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 44.459$	$q = 0.356$
C/C	9	$q^2 \cdot n = 12.271$	$X^2 = 2.100$
rs4680			
A/A	15	$p^2 \cdot N = 18.621$	$p = 0.439$
G/A	55	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 47.758$	$q = 0.561$
G/G	27	$q^2 \cdot n = 30.621$	$X^2 = 2.231$
rs165599			
A/A	24	$p^2 \cdot N = 29.508$	$p = 0.552$
G/A	59	$2 \cdot p \cdot q \cdot N = 47.985$	$q = 0.448$
G/G	14	$q^2 \cdot n = 19.508$	$X^2 = 5.112$

3.2 Κατανομή δημογραφικών χαρακτηριστικών, γονοτύπων και αλληλόμορφων

Τρεις πολυμορφισμοί του γονιδίου COMT (rs737865, rs4680 και rs165599) εξετάστηκαν για πιθανή συσχέτιση με τη σχιζοφρένεια. Στη μελέτη συμμετείχαν 108 ασθενείς με σχιζοφρένεια και 97 υγιείς μάρτυρες. Από το σύνολο του δείγματος, 140 (68.3%) ήταν άντρες και 65 (31.7%) γυναίκες, με μέση ηλικία 42.70 ± 11.97 έτη. Ο Πίνακας 3 παρουσιάζει τις συχνότητες των δημογραφικών χαρακτηριστικών ανά ασθενείς και μάρτυρες. Η κατανομή του φύλου ελέγχθηκε με το κριτήριο χι-τετράγωνο και δε βρέθηκε ένδειξη για πιθανή διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων ($p = 0.153$). Όσον αφορά στην ηλικία, οι μέσες τιμές της ηλικίας δε διέφεραν

σημαντικά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, με την τιμή του p-value να εκτιμάται στο $p=0.430$, μέσω του κριτηρίου Student's t-test.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 4, στο σύνολο των 108 ασθενών, 57 (52.8%) είχαν γονότυπο T/C, 56 (51.9%) G/A και 61 (56.5%) G/A στους πολυμορφισμούς rs737865, rs4680 και rs165599 αντίστοιχα. Στην ομάδα των 97 υγιών μαρτύρων, 51 (52.6%) είχαν γονότυπο T/C, 55 (56.7%) G/A και 59 (60.8%) G/A στους πολυμορφισμούς rs737865, rs4680 και rs165599 αντίστοιχα. Κανένας εκ των τριών γονοτύπων δε βρέθηκε να σχετίζεται ανεξάρτητα με την υπό διερεύνηση ψυχική νόσο, όπως συμπεραίνουμε μετά από αξιολόγηση των σχετικών p-values.

Η κατανομή των αλληλόμορφων των 108 ασθενών με σχιζοφρένεια και των 97 υγιών μαρτύρων περιγράφεται στον Πίνακα 5. Στην ομάδα των ασθενών, τα πιο συχνά αλληλόμορφα που εντοπίστηκαν ήταν τα T (67.1%), G (51.9%) και A (59.7%) στους πολυμορφισμούς rs737865, rs4680 και rs165599 αντίστοιχα. Ομοίως, στην ομάδα των μαρτύρων, τα πιο συχνά αλληλόμορφα που εντοπίστηκαν ήταν τα T (64.4%), G (56.2%) και A (55.2%) στους πολυμορφισμούς rs737865, rs4680 και rs165599 αντίστοιχα.

Πίνακας 3: Συχνότητες δημογραφικών χαρακτηριστικών των 108 ασθενών με σχιζοφρένεια και των 97 υγιών μαρτύρων.

Μεταβλητές	Ασθενείς (N=108)	Μάρτυρες (N=97)	P-value [†]
Φύλο			0.153
Άντρες	69 (63.9)	71 (73.2)	
Γυναίκες	39 (36.1)	26 (26.8)	
Ηλικία, έτη	43.32 ± 12.24	42.00 ± 11.68	0.430

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως N (%) ή ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Student's t-test για την ηλικία, ενώ το κριτήριο χι-τετράγωνο χρησιμοποιήθηκε για το φύλο

Πίνακας 4: Συχνότητες γονοτύπων των 108 ασθενών με σχιζοφρένεια και των 97 υγιών μαρτύρων.

Μεταβλητές	Ασθενείς (N=108)	Μάρτυρες (N=97)	P-value [†]
rs737865			0.787
T/C	57 (52.8)	51 (52.6)	
T/T	44 (40.7)	37 (38.1)	
C/C	7 (6.5)	9 (9.3)	
rs4680			0.511
G/A	56 (51.9)	55 (56.7)	
A/A	24 (22.2)	15 (15.5)	
G/G	28 (25.9)	27 (27.8)	
rs165599			0.558
G/A	61 (56.5)	59 (60.8)	
A/A	34 (31.5)	24 (24.7)	
G/G	13 (12.0)	14 (14.5)	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως N (%)

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το κριτήριο χι-τετράγωνο

Πίνακας 5: Συχνότητες αλληλόμορφων των 108 ασθενών με σχιζοφρένεια και των 97 υγιών μαρτύρων.

Μεταβλητές	Ασθενείς (N=108)	Μάρτυρες (N=97)	P-value [†]
rs737865			0.565
T	145 (67.1)	125 (64.4)	
C	71 (32.9)	69 (35.6)	
rs4680			0.379
G	112 (51.9)	109 (56.2)	
A	104 (48.1)	85 (43.8)	
rs165599			0.350
A	129 (59.7)	107 (55.2)	
G	87 (40.3)	87 (44.8)	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως N (%)

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το κριτήριο χι-τετράγωνο

3.3 Μέθοδοι ανάλυσης

3.3.1 Γενετικά μοντέλα

Ένας σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός μπορεί να φέρει δύο αλληλόμορφα π.χ. A και B. Ο γονότυπος μπορεί να είναι AA, AB και BB.

Σύμφωνα με το επικρατές μοντέλο (dominant) είτε έχεις ένα ή δύο αντίγραφα από ένα αλληλόμορφο έχεις την ίδια επίδραση στην ασθένεια. Έτσι για παράδειγμα εάν υποθέσουμε ότι το B αλληλόμορφο είναι επικρατές και αυξάνει τον κίνδυνο της ασθένειας ο γονότυπος BB και ο γονότυπος AB αυξάνει επίσης τον κίνδυνο της ασθένειας.

Εναλλακτικά σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο μόνο όταν έχεις δύο αντίγραφα ενός αλληλόμορφου έχεις επίδραση πάνω στην ασθένεια. Έτσι εάν υποθέσουμε ότι το B αλληλόμορφο είναι υπολειπόμενο και αυξάνει τον κίνδυνο σχιζοφρένειας, τότε μόνο ο γονότυπος BB αυξάνει τον κίνδυνο της ασθένειας, ο AA και ο AB δεν αυξάνουν τον κίνδυνο της ασθένειας.

Ένα τρίτο πιθανό γενετικό μοντέλο είναι το προσθετικό. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο όταν έχουμε δύο αντίγραφα ενός αλληλόμορφου έχεις διπλάσια επίδραση στην ασθένεια από ό,τι όταν έχεις ένα αντίγραφο. Έτσι για παράδειγμα εάν ισχύει το προσθετικό μοντέλο για το B αλληλόμορφο, και ο γονότυπος AB έχει χ κίνδυνο να εμφανισθεί η ασθένεια, ο γονότυπος BB φέρει 2χ αυξημένο κίνδυνο να εκδηλωθεί η ασθένεια. Αυτό το μοντέλο δείχνει μία τάση αυξημένου αριθμού γονοτύπων AB και BB, με τον κίνδυνο των AB στο μισό περίπου σε σχέση με τον BB γονότυπο.

Τέλος η ανάλυση ανά αλληλόμορφο δίνει μία διαφορετική εκδοχή για τα δεδομένα μας. Στην ανάλυση αυτή σπάμε τους γονότυπους και συγκρίνουμε τον ολικό αριθμό του A αλληλόμορφου σε σχέση με το B σε ασθενείς και σε μάρτυρες, άσχετα με τον γονότυπο από τον οποίον μπορούν να προέλθουν τα παραπάνω αλληλόμορφα. Αυτή η μέθοδος ανάλυσης ενδείκνυται κυρίως όταν πρόκειται να εξετάσουμε εάν ο πολυμορφισμός ακολουθεί πολλαπλασιαστικό μοντέλο, δηλαδή εάν ο κίνδυνος να εκδηλωθεί μία ασθένεια αυξάνει εκθετικά για κάθε π.χ. B αλληλόμορφο που φέρει ο γονότυπος. Έτσι εάν χ είναι ο κίνδυνος εκδήλωσης της ασθένειας για το γονότυπο AB τότε χ^2 είναι ο αντίστοιχος κίνδυνος για τον γονότυπο BB.

3.3.2 Λογαριθμική παλινδρόμηση

Στην περίπτωση της έρευνάς μας η εξαρτημένη μεταβλητή (η εκδήλωση της σχιζοφρένειας) είναι ποιοτική με δύο πιθανά αποτελέσματα και επομένως δεν είναι δυνατή η εφαρμογή πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, γι' αυτό και εφαρμόζεται η λογαριθμική εξάρτηση (logistic regression). Η εξαρτημένη μεταβλητή (σχιζοφρένεια) κωδικοποιείται με 2 τιμές: με 0 εάν δεν υπάρχει το νόσημα που μελετάμε και με 1 εάν υπάρχει. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου με πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή, μετασχηματίζεται η εξαρτημένη μεταβλητή με το μετασχηματισμό logit. Αν p είναι η αναλογία των ατόμων που έχουν τη σχιζοφρένεια, τότε $1-p$ είναι η αναλογία αυτών που δεν την έχουν. Το πηλίκο $p/1-p$ ονομάζεται λόγος συμπληρωματικών πιθανοτήτων (odds) και ο λογάριθμός του είναι ο μετασχηματισμός logit:

$$\text{Logit}(p) = \log(p/1-p)$$

Το μοντέλο που εφαρμόζεται είναι της μορφής:

$$\text{Logit}(p) = \alpha + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots$$

$x_1, x_2, \dots$ είναι οι ανεξάρτητες μεταβλητές

$b_1, b_2, \dots$ είναι οι συντελεστές μερικής εξάρτησης που ο καθένας εκφράζει πόσο θα μεταβληθεί η εξαρτημένη μεταβλητή όταν η ανεξάρτητη μεταβληθεί κατά μία μονάδα και όλες οι υπόλοιπες ανεξάρτητες παραμένουν σταθερές

α = η σταθερά της εξίσωσης

3.4 Λογαριθμική παλινδρόμηση για τη σχέση σχιζοφρένειας και πολυμορφισμών

Η διερεύνηση της ανεξάρτητης σχέσης μεταξύ της σχιζοφρένειας και καθενός εκ των τριών πολυμορφισμών πραγματοποιήθηκε με τέσσερα ανεξάρτητα μοντέλα, και συγκεκριμένα, με το υπολειπόμενο, το επικρατές και το προσθετικό καθώς και με την ανάλυση ανά αλληλόμορφο. Αναλυτικά η κατανομή των γονοτύπων και τα αποτελέσματα των μοντέλων λογαριθμιστικής παλινδρόμησης, χωριστά για κάθε πολυμορφισμό και για κάθε προτεινόμενο μοντέλο παρουσιάζονται στους Πίνακες 6.1-6.12. Οι σχετικοί λόγοι, τα όρια αξιοπιστίας και οι αντίστοιχες τιμές των p-values, που προέκυψαν από κάθε στατιστικό μοντέλο συνοψίζονται στον συγκεντρωτικό Πίνακα 6.13.

Σχιζοφρένεια και rs737865

Αναφορικά με τον πολυμορφισμό rs737865, οι σχετικοί λόγοι εκτιμήθηκαν ως εξής: (α) 0.68 (95% ΟΑ: 0.24-1.90, $p=0.459$) κατά τη σύγκριση των CC ομοζυγωτών έναντι των TT+TC σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο (Πίνακας 6.1), (β) 0.90 (95% ΟΑ: 0.51-1.57, $p=0.705$) για τους CC+TC έναντι των TT ομοζυγωτών σύμφωνα με το επικρατές μοντέλο (Πίνακας 6.2), (γ) 0.87 (95% ΟΑ: 0.55-1.36, $p=0.528$) κατά την προσθήκη ενός C αλληλίου σύμφωνα με το προσθετικό μοντέλο (Πίνακας 6.3) και, (δ) 0.89 (95% ΟΑ: 0.59-1.34, $p=0.565$) συγκρίνοντας το C έναντι του T αλληλίου (Πίνακας 6.4). Συμπερασματικά λοιπόν, κανένα από τα παραπάνω γενετικά μοντέλα του πολυμορφισμού rs737865 δεν κατάφερε να αναδείξει μια πιθανή γενετική συμβολή του εν λόγω πολυμορφισμού μεμονωμένα στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας.

Πίνακας 6.1: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός rs737865 (υπολειπόμενο μοντέλο)

rs737865	CC	TT+TC	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	7 (6%)	101 (94%)	0.68	0.24 - 1.90	0.459
Μάρτυρες N=97	9 (9%)	88 (91%)	-	-	-

Πίνακας 6.2: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs737865* (επικρατές μοντέλο)

rs737865	CC+TC	TT	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	64 (59%)	44 (41%)	0.90	0.51 - 1.57	0.705
Μάρτυρες N=97	60 (62%)	37 (38%)	-	-	-

Πίνακας 6.3: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs737865* (προσθετικό μοντέλο)

rs737865	CC	TC	TT	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	7 (6%)	57 (53%)	44 (41%)	0.87	0.55 - 1.36	0.528
Μάρτυρες N=97	9 (9%)	51 (53%)	37 (38%)	-	-	-

Πίνακας 6.4: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs737865* (ανάλυση ανά αλληλόμορφο)

rs737865	C αλλήλιο	T αλλήλιο	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=216	71 (33%)	145 (67%)	0.89	0.59 - 1.34	0.565
Μάρτυρες N=194	69 (36%)	125 (64%)	-	-	-

Σχιζοφρένεια και rs4680

Όσον αφορά στον πολυμορφισμό rs4680, οι σχετικοί λόγοι εκτιμήθηκαν ως εξής: (α) 1.56 (95% OA: 0.77-3.19, $p=0.221$) για τους AA έναντι των GG+GA σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο (Πίνακας 6.5), (β) 1.10 (95% OA: 0.59-2.05, $p=0.758$) για τους AA+GA έναντι των GG σύμφωνα με το επικρατές μοντέλο (Πίνακας 6.6), (γ) 1.21 (95% OA: 0.81-1.83, $p=0.358$) κατά την προσθήκη ενός A αλλήλιου σύμφωνα με το προσθετικό μοντέλο (Πίνακας 6.7) και (δ) 1.19 (95% OA: 0.81-1.76, $p=0.380$) συγκρίνοντας το A έναντι του G αλλήλιου (Πίνακας 6.8). Συμπερασματικά λοιπόν, κανένα από τα παραπάνω γενετικά μοντέλα του πολυμορφισμού rs4680 δεν κατάφερε να αναδείξει μια πιθανή γενετική συμβολή του εν λόγω πολυμορφισμού στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας. Αξίζει ωστόσο να επισημανθεί ότι, σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο, οι AA έναντι των GG+GA διατρέχουν σχεδόν 50% μεγαλύτερο κίνδυνο (ΣΛ: 1.56) να αναπτύξουν σχιζοφρένεια. Παρόλα κρίνοντας από

την τιμή του p-value (0.221) φαίνεται ότι η ένδειξη αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική πιθανότατα λόγω του σχετικά μικρού δείγματος της παρούσας μελέτης.

Πίνακας 6.5: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs4680* (υπολειπόμενο μοντέλο)

rs4680	AA	GG+GA	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	24 (22%)	84 (78%)	1.56	0.77 - 3.19	0.221
Μάρτυρες N=97	15 (15%)	82 (85%)	-	-	-

Πίνακας 6.6: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs4680* (επικρατές μοντέλο)

rs4680	AA+GA	GG	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	95 (88%)	13 (12%)	1.10	0.59 - 2.05	0.758
Μάρτυρες N=97	83 (86%)	14 (14%)	-	-	-

Πίνακας 6.7: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs4680* (προσθετικό μοντέλο)

rs4680	AA	GA	GG	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	24 (22%)	56 (52%)	28 (26%)	1.21	0.81 - 1.83	0.358
Μάρτυρες N=97	15 (16%)	55 (56%)	27 (28%)	-	-	-

Πίνακας 6.8: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs4680* (ανάλυση ανά αλληλόμορφο)

rs4680	A αλλήλιο	G αλλήλιο	ΣΛ	95% OA	P-value
Σχιζοφρενείς N=216	104 (48%)	112 (52%)	1.19	0.81 - 1.76	0.380
Μάρτυρες N=194	85(44%)	109 (56%)	-	-	-

Σχιζοφρένεια και *rs165599*

Τέλος, αναφορικά με τον πολυμορφισμό *rs165599*, οι σχετικοί λόγοι εκτιμήθηκαν ως εξής: (α) 1.40 (95% OA: 0.76-2.58, p=0.286) για τους AA έναντι των GG+GA σύμφωνα με το υπολειπόμενο μοντέλο (Πίνακας 6.9), (β) 1.23 (95% OA: 0.55-2.77,

p=0.612) για τους AA+GA έναντι των GG σύμφωνα με το επικρατές μοντέλο (Πίνακας 6.10), (γ) 1.26 (95% ΟΑ: 0.81-1.96, p=0.298) κατά την προσθήκη ενός Α αλληλίου σύμφωνα με το προσθετικό μοντέλο (Πίνακας 6.11), και (δ) 1.21 (95% ΟΑ: 0.81-1.79, p=0.350) συγκρίνοντας το Α έναντι του G αλληλίου (Πίνακας 6.12). Ως εκ τούτου κανένα από τα παραπάνω γενετικά μοντέλα του πολυμορφισμού rs165599 δεν κατάφερε να αναδείξει μια πιθανή γενετική συμβολή του εν λόγω πολυμορφισμού στην εμφάνιση της σχιζοφρένειας. Στην περίπτωση βέβαια του υπολειπόμενου μοντέλου, οι AA έναντι των GG+GA διατρέχουν 40% μεγαλύτερο κίνδυνο (ΣΛ: 1.40) να αναπτύξουν σχιζοφρένεια. Παρόλα κρίνοντας από την τιμή του p-value (0.286) φαίνεται ότι η ένδειξη αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική πιθανότατα λόγω του σχετικά μικρού δείγματος της παρούσας μελέτης.

Πίνακας 6.9: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs165599* (υπολειπόμενο μοντέλο)

rs165599	AA	GG+GA	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	34 (31%)	74 (69%)	1.40	0.76 - 2.58	0.286
Μάρτυρες N=97	24 (25%)	73 (75%)	-	-	-

Πίνακας 6.10: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs165599* (επικρατές μοντέλο)

rs165599	AA+GA	GG	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	80 (74%)	28 (26%)	1.23	0.55 - 2.77	0.612
Μάρτυρες N=97	70 (72%)	27 (28%)	-	-	-

Πίνακας 6.11: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs165599* (προσθετικό μοντέλο)

rs165599	AA	GA	GG	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value
Σχιζοφρενείς N=108	34 (32%)	61 (56%)	13 (12%)	1.26	0.81 - 1.96	0.298
Μάρτυρες N=97	24 (25%)	59 (61%)	14 (14%)	-	-	-

Πίνακας 6.12: Σχιζοφρένεια και πολυμορφισμός *rs165599* (ανάλυση ανά αλληλόμορφο)

rs165599	A αλληλίο	G αλληλίο	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value
Σχιζοφρενείς N=216	129 (60%)	87 (40%)	1.21	0.81 - 1.79	0.350
Μάρτυρες N=194	107 (55%)	87 (45%)	-	-	-

Πίνακας 6.13: Σχετικοί λόγοι (ΣΛ), 95% όρια αξιοπιστίας (95% OA) και p-values, όπως προέκυψαν από απλές λογαριθμιστικές παλινδρομήσεις για τον κίνδυνο σχιζοφρένειας σε κάθε έναν εκ των τριών πολυμορφισμών (rs737865, rs4680 και rs165599), ανά υπολειπόμενο, επικρατές, προσθετικό μοντέλο και ανάλυση ανά αλληλίο.

Πολυμορφισμοί	ΣΛ	95% OA	P-value
rs737865			
<i>Υπολειπόμενο μοντέλο</i>			
CC έναντι TT+TC	0.68	0.24 - 1.90	0.459*
<i>Επικρατές μοντέλο</i>			
CC+TC έναντι TT	0.90	0.51 - 1.57	0.705*
<i>Προσθετικό μοντέλο</i>			
C αλληλίο έναντι TT	0.87	0.55 - 1.36	0.528**
<i>Ανάλυση κατά αλληλίο</i>			
C αλληλίο έναντι T αλληλίο	0.89	0.59 - 1.34	0.565*
rs4680			
<i>Υπολειπόμενο μοντέλο</i>			
AA έναντι GG+GA	1.56	0.77 - 3.19	0.221*
<i>Επικρατές μοντέλο</i>			
AA+GA έναντι GG	1.10	0.59 - 2.05	0.758*
<i>Προσθετικό μοντέλο</i>			
A αλληλίο έναντι GG	1.21	0.81 - 1.83	0.358**
<i>Ανάλυση κατά αλληλίο</i>			
A αλληλίο έναντι G αλληλίο	1.19	0.81 - 1.76	0.380*
rs165599			
<i>Υπολειπόμενο μοντέλο</i>			
AA έναντι GG+GA	1.40	0.76 - 2.58	0.286*
<i>Επικρατές μοντέλο</i>			
AA+GA έναντι GG	1.23	0.55 - 2.77	0.612*
<i>Προσθετικό μοντέλο</i>			
A αλληλίο έναντι GG	1.26	0.81 - 1.96	0.298**
<i>Ανάλυση κατά αλληλίο</i>			
A αλληλίο έναντι G αλληλίο	1.21	0.81 - 1.79	0.350*

* Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Wald test

** Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Armitage test for trend

3.5 Ανάλυση ανά απλότυπο

Εν συνεχεία, έγινε ανάλυση ανά απλότυπο, συγκρίνοντας όλους τους τριπλούς απλοτύπους που δύνανται να προκύψουν από συνδυασμούς αλληλίων των πολυμορφισμών rs737865, rs4680 και rs165599. Οι πιο συχνοί απλότυποι, στην ομάδα των ασθενών ήταν οι T/A/A (26.0%) και T/G/A (16.1%), ενώ στην ομάδα των μαρτύρων οι T/A/A (20.6%) και T/G/G (18.6%). Οι συχνότητες απλοτύπων ανά ομάδα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του κριτηρίου χι-τετράγωνο για τη σύγκριση των συχνοτήτων στις δύο ομάδες βρέθηκε ότι οι ασθενείς έχουν συχνότερη έκφραση του T/A/A ($p=0.010$) και οριακά σπανιότερη έκφραση του T/G/G ($p=0.088$) συγκριτικά με τους μάρτυρες. Οι υπόλοιποι έξι απλότυποι είχαν παρόμοια συχνότητα εμφάνισης στις δύο ομάδες συμμετεχόντων.

Πίνακας 7 : Συχνότητες απλοτύπων ανά ομάδα ασθενών και μαρτύρων.

Απλότυποι rs737865 / 4680 / 165599	Ασθενείς N (%)	Μάρτυρες N (%)	P-value [†]
T/G/G	133 (15.5)	144 (18.6)	0.088
T/A/A	225 (26.0)	160 (20.6)	0.010
T/G/A	139 (16.1)	118 (15.2)	0.624
C/G/G	103 (11.9)	90 (11.6)	0.839
C/G/A	77 (8.9)	84 (10.8)	0.194
T/A/G	83 (9.6)	78 (10.1)	0.762
C/A/A	71 (8.2)	66 (8.5)	0.834
C/A/G	33 (3.8)	36 (4.6)	0.409

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το κριτήριο χι-τετράγωνο

Σύμφωνα με την λογαριθμιστική παλινδρόμηση (Πίνακας 8), όπου η σχιζοφρένεια θεωρήθηκε ως εξαρτημένη μεταβλητή, ο φυσιολογικός τύπος (wild type) ως κατηγορία αναφοράς και οι οκτώ απλότυποι ως ανεξάρτητες μεταβλητές, εντοπίστηκε μια στατιστικά σημαντική επιβαρυντική δράση του T/A/A στην

εμφάνιση σχιζοφρένειας. Ειδικότερα, συγκριτικά με την έκφραση αναφοράς T/G/G, τα άτομα με έκφραση T/A/A βρέθηκαν να έχουν 52% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της σχιζοφρένειας ($\Sigma\Lambda=1.52$; 95% ΟΑ: 1.12-2.08; $p=0.008$), ενώ δεν υπήρξε ένδειξη για συσχέτιση με τη νόσο κανενός άλλου απλότυπου.

Πίνακας 8: Κατανομή απλοτύπων ανά ομάδα ασθενών και μαρτύρων, καθώς και σχετικοί λόγοι ($\Sigma\Lambda$) για σχιζοφρένεια, 95% όρια αξιοπιστίας (95% ΟΑ) και p-values, όπως προέκυψαν από λογαριθμιστική παλινδρόμηση.

Απλότυποι rs737865 / 4680 / 165599	Ασθενείς N (%)	Μάρτυρες N (%)	$\Sigma\Lambda$	95% ΟΑ	P-value [†]
T/G/G	133 (15.5)	144 (18.6)	αναφορά	-	-
T/A/A	225 (26.0)	160 (20.6)	1.52	1.12 - 2.08	0.008
T/G/A	139 (16.1)	118 (15.2)	1.28	0.91 - 1.79	0.161
C/G/G	103 (11.9)	90 (11.6)	1.24	0.86 - 1.79	0.254
C/G/A	77 (8.9)	84 (10.8)	0.99	0.67 - 1.46	0.970
T/A/G	83 (9.6)	78 (10.1)	1.15	0.78 - 1.70	0.475
C/A/A	71 (8.2)	66 (8.5)	1.17	0.77 - 1.76	0.466
C/A/G	33 (3.8)	36 (4.6)	0.99	0.59 - 1.68	0.978

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Wald test

3.6 Διερεύνηση των απλοτύπων T/A/A και T/G/G

Για να μελετήσουμε περαιτέρω το εύρημα σχετικά με την επιβαρυντική δράση του T/A/A και την προστατευτική δράση του T/G/G, προχωρήσαμε σε μια πιο λεπτομερή ανάλυση, διερευνώντας όλους τους πιθανούς συνδυασμούς γονοτύπων από τους οποίους δύνανται να προέλθουν οι απλότυποι T/A/A και T/G/G. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 9 και 10 αντίστοιχα. Η ανάλυση αυτή για τον απλότυπο T/A/A (Πίνακας 9) έδειξε ότι, λαμβάνοντας ως κατηγορία αναφοράς την πιο συχνή έκφραση, T/T-A/A-A/A, οι συμμετέχοντες με έκφραση T/C-A/A-A/A

είχαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου ($\Sigma\Lambda=2.13$; 95% ΟΑ: 1.02-4.47; $p=0.045$). Επιπλέον και οι συμμετέχοντες με έκφραση T/T-A/A-G/A ήταν πιο πιθανό να αναπτύξουν τη νόσο ($\Sigma\Lambda=3.20$; 95% ΟΑ: 1.02-10.05; $p=0.046$) σε σχέση με τους συμμετέχοντες με έκφραση T/T-A/A-A/A. Αναφορικά με τον απλότυπο T/G/G (Πίνακας 10), βρέθηκε ένδειξη για προστατευτική δράση των εκφράσεων T/T-G/G-G/G ($\Sigma\Lambda=0.22$; 95% ΟΑ: 0.09-0.56; $p=0.001$) και T/T-G/A-G/G ($\Sigma\Lambda=0.33$; 95% ΟΑ: 0.12-0.87; $p=0.025$), συγκρινόμενοι και οι δύο με την πιο συχνή κατηγορία T/T-G/A-G/A. Στο συγκεκριμένο μοντέλο, δύο συνδυασμοί, ο T/T-G/G-G/G και ο T/C-G/A-G/G δεν συμπεριλήφθηκαν εξαιτίας των εξαιρετικά χαμηλών συχνοτήτων που εμφάνισαν.

Πίνακας 9: Συχνότητες όλων των πιθανών συνδυασμών γονοτύπων του απλότυπου T/A/A καθώς και σχετικοί λόγοι (ΣΛ) για σχιζοφρένεια, 95% όρια αξιοπιστίας (95% ΟΑ) και p-values, όπως προέκυψαν από λογαριθμιστική παλινδρόμηση.

rs737865	rs4680	rs165599	Ασθενείς N (%)	Μάρτυρες N (%)	Σύνολο N (%)	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value [†]
T/T	A/A	A/A	80 (35.6)	64 (40.0)	144 (37.4)	αναφορά	-	-
T/T	G/A	G/A	32 (14.2)	26 (16.2)	58 (15.1)	0.99	0.53 - 1.82	0.961
T/C	G/A	G/A	21 (9.4)	24 (15.0)	45 (11.7)	0.70	0.36 - 1.37	0.298
T/T	G/A	A/A	32 (14.2)	16 (10.0)	48 (12.5)	1.60	0.81 - 3.17	0.178
T/C	A/A	A/A	32 (14.2)	12 (7.5)	44 (11.4)	2.13	1.02 - 4.47	0.045
T/C	G/A	A/A	10 (4.4)	12 (7.5)	22 (5.7)	0.67	0.27 - 1.64	0.378
T/T	A/A	G/A	16 (7.1)	4 (2.5)	20 (5.2)	3.20	1.02 - 10.05	0.046
T/C	A/A	G/A	2 (0.9)	2 (1.3)	4 (1.0)	0.80	0.11 - 5.84	0.826

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Wald test

Πίνακας 10: Συχνότητες όλων των πιθανών συνδυασμών γονοτύπων του απλότυπου T/G/G καθώς και σχετικοί λόγοι (ΣΛ) για σχιζοφρένεια, 95% όρια αξιοπιστίας (95% ΟΑ) και p-values, όπως προέκυψαν από λογαριθμιστική παλινδρόμηση.

rs737865	rs4680	rs165599	Ασθενείς N (%)	Μάρτυρες N (%)	Σύνολο N (%)	ΣΛ	95% ΟΑ	P-value [†]
T/T	G/A	G/A	40 (30.1)	26 (18.0)	66 (23.7)	αναφορά	-	-
T/C	G/G	G/G	28 (21.1)	16 (11.1)	44 (15.9)	1.14	0.52 - 2.50	0.749
T/C	G/A	G/A	21 (15.7)	24 (16.7)	45 (16.3)	0.57	0.26 - 1.22	0.149
T/C	G/G	G/A	24 (18.1)	20 (13.9)	44 (15.9)	0.78	0.36 - 1.69	0.528
T/T	G/G	G/G	8 (6.0)	24 (16.7)	32 (11.6)	0.22	0.09 - 0.56	0.001
T/T	G/A	G/G	8 (6.0)	16 (11.1)	24 (8.7)	0.33	0.12 - 0.87	0.025
T/T	G/G	G/A	4 (3.0)	16 (11.1)	20 (7.2)	n/a	n/a	n/a
T/C	G/A	G/G	0 (0.0)	2 (1.4)	2 (0.7)	n/a	n/a	n/a

[†]Οι τιμές των P-values προέκυψαν από το Wald test

Εξαιτίας των χαμηλών συχνοτήτων των συνδυασμών T/T-G/G-G/A και T/C-G/A-G/G, οι συνδυασμοί αυτοί δεν ήταν εφικτό να συμπεριληφθούν στο στατιστικό μοντέλο

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη μας εξετάσαμε καθένα ξεχωριστά τους τρεις πολυμορφισμούς που εντοπίζονται στο γονίδιο της COMT. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε ο γονότυπος Ελλήνων ασθενών και μαρτύρων των ακόλουθων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών: rs4680 (δείκτης στο γονίδιο της COMT που κωδικοποιεί τον Val/Met πολυμορφισμό), rs165599 (δείκτης που βρίσκεται στην 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή) και του rs737865 (στο 5' άκρο, σημείο που κείται κοντά στο εξώνιο 1).

Κανένας εκ των τριών πολυμορφισμών δε βρέθηκε να σχετίζεται με τη σχιζοφρένεια, όπως φάνηκε μετά από αξιολόγηση των κατανομών τόσο των γονοτύπων όσο και των αλληλόμορφων.

Εν συνεχεία, έγινε ανάλυση ανά απλότυπο, συγκρίνοντας όλους τους τριπλούς απλοτύπους που είναι δυνατόν να προκύψουν από συνδυασμούς αλληλόμορφων των τριών παραπάνω πολυμορφισμών. Η απλοτυπική ανάλυση αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο για την ταυτοποίηση υποψήφιων γονιδίων, που ευθύνονται για την εμφάνιση πολύπλοκων ασθενειών. Η σχιζοφρένεια είναι μία πολυπαραγοντική ασθένεια και είναι πολύ πιθανό πολλαπλοί γενετικοί παράγοντες με ασθενή επίδραση όταν μελετάται ο καθένας ξεχωριστά, να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και όλοι μαζί να συντελούν στην εμφάνιση της ασθένειας. Έτσι, η απλοτυπική ανάλυση θεωρείται ότι είναι πολύ πιο χρήσιμη από την ανάλυση καθενός ξεχωριστού πολυμορφισμού, διότι εμπεριέχει περισσότερες πληροφορίες για τους αιτιολογικούς γενετικούς παράγοντες που ευθύνονται για την εκδήλωση της ασθένειας στον πληθυσμό.

Ειδικότερα στη μελέτη μας οι περιπτώσεις των ασθενών παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική μεγαλύτερη έκφραση του rs737865/rs4680/rs165599 T-A-A απλοτύπου, ενώ αντίθετα οι μάρτυρες του T-G-G απλοτύπου. Το G αλληλόμορφο είναι το αρχέγονο αλληλόμορφο για τους πολυμορφισμούς rs4680 και rs 165599. Το C αλληλόμορφο του rs 737865 αντιστοιχεί στο G αλληλόμορφο της μελέτης των Shifman et al (2002) και αντιπροσωπεύει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο, ενώ το T αλληλόμορφο που αναφέρεται στο A αλληλόμορφο της μελέτης των Shifman et al αντιπροσωπεύει τον άγριο τύπο αλληλίου του rs737865 πολυμορφισμού. Θα μπορούσαμε λοιπόν να υποθέσουμε ότι ο T-G-G απλότυπος, ο οποίος αποτελείται από τα άγρια (μη-μεταλλαγμένα) τύπου αλληλόμορφα των τριών πολυμορφισμών είναι φυσιολογικό να επικρατεί στους μάρτυρες σε σχέση με τους ασθενείς.

Ένα σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης μας που προέκυψε από την απλοτυπική ανάλυση είναι ότι συγκριτικά με την έκφραση αναφοράς T-G-G, που θεωρείται ο φυσιολογικός τύπος, τα άτομα που φέρουν τον απλότυπο T-A-A έχουν 52% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της σχιζοφρένειας (πίνακας 8, σελ.159)

Έχουν γίνει πολλές μελέτες που χρησιμοποιούν ως δείγμα άτομα Ευρωπαϊκής καταγωγής. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει ομοφωνία στα αποτελέσματα των μελετών αυτών. Έτσι, διαφορετικοί πληθυσμοί έχουν δείξει διαφορετική συσχέτιση με τη σχιζοφρένεια και διαφορετική τριπλέτα απλοτύπων φαίνεται να αυξάνει την επιρρέπεια στην ασθένεια ανάλογα με τη μελέτη.

Εως το 2002 οι περισσότερες μελέτες εστιάζονταν στον λειτουργικό πολυμορφισμό rs 4680 (Val108/158Met), διότι το Met αλληλόμορφο παρουσίαζε σημαντική μείωση της δράσης του ενζύμου της COMT.¹⁴³ Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών ήταν αντικρουόμενα. Οι αρχικές μελέτες ανέφεραν ότι το A (Met) αλληλόμορφο σχετίζεται με τη σχιζοφρένεια,²⁰⁵ ενώ οι πιο πρόσφατες έρευνες ευνοούν τη συσχέτιση του G (Val) αλληλίου με την ασθένεια.^{270, 203}

Το 2002 οι Shifman et al.²⁰⁴ πραγματοποίησαν μία πολύ μεγάλη μελέτη ασθενών-μαρτύρων με σχιζοφρένεια, 720 ασθενείς και 4000 μάρτυρες προερχόμενοι από τον Εβραϊκό πληθυσμό Εσκενάζυ, έναν καλά χαρακτηρισμένο και ομοιογενές πληθυσμό. Οι ερευνητές εξέτασαν όχι μόνο τον Val/Met πολυμορφισμό, αλλά και άλλους πολυμορφισμούς κατά μήκος του COMT γονιδίου. Είναι ενδιαφέρον ότι η μελέτη έδειξε μέτρια σχέση του Val/Met πολυμορφισμού με τη σχιζοφρένεια, αλλά όταν εξετάστηκε ως μέρος ενός απλοτύπου που περιελάμβανε δύο άλλους μη κωδικοποιούμενους πολυμορφισμούς τους rs737865 και rs165599 επιτεύχθηκαν πολύ υψηλά επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας ($P=9.5 \times 10^{-8}$) (πίνακας 1). Επιπλέον οι δύο πολυμορφισμοί ξεχωριστά έδειξαν υψηλή συσχέτιση με την ασθένεια. Τα παραπάνω στοιχεία υποδηλώνουν ότι εφόσον η περιοχή της COMT εμπλέκεται στην επιρρέπεια για την ασθένεια, δεν ευθύνεται μόνο ο Val/Met πολυμορφισμός, αλλά περισσότεροι πολυμορφισμοί επηρεάζουν την ευαισθησία για την εκδήλωση της ασθένειας.

HAPLOTYPE	FREQUENCY (%)				P			LD*	
	Male		Female		Male	Female	All	r	D'
	Patient	Control	Patient	Control					
rs737865-rs165599:					.0093	.0014	.00014	.30	.32
G-A	18.53	17.84	17.08	18.96					
G-G	28.30	23.12	28.74	19.67	.0015	.000055	.00000096		
A-A	38.90	43.50	38.43	45.30					
A-G	14.27	15.55	15.76	16.06					
rs737865-rs165688:					.017	.046	.0057	.68	.85
G-A	3.20	3.12	3.04	2.19					
G-G	43.61	37.71	42.98	36.85	.0016	.021	.000092		
A-A	40.30	44.59	42.76	46.32					
A-G	12.88	14.58	11.22	14.64					
rs165599-rs165688:					.096	.0012	.0011	.44	.58
G-A	6.73	7.69	10.49	7.74					
G-G	34.97	30.69	34.35	27.28	.011	.0024	.00013		
A-A	37.48	40.22	36.07	41.47					
A-G	20.81	21.40	19.08	23.51					
rs165688-rs737865-rs165599:					.0084	.0069	.00045		
G-G-A	15.77	15.83	14.80	17.87					
G-G-G	27.84	21.90	28.18	19.01	.00023	.000047	.000000095		
G-A-A	5.56	5.74	4.49	5.64					
G-A-G	7.33	8.82	6.74	9.14					
A-G-A	2.94	1.96	2.05	1.60					
A-G-G	.26	1.15	.99	.54					
A-A-A	33.33	38.07	34.20	38.95					
A-A-G	6.97	6.54	8.56	7.23					

* r = Pearson correlation; D' = standardized LD coefficient.

Πίνακας 1.

Ο παραπάνω πίνακας της μελέτης των Shifman et al. περιγράφει τη διαφορά στη συχνότητα των απλοτύπων μεταξύ ασθενών και μαρτύρων και αναφέρει τη σημαντικότητα της συσχέτισής τους. (Shifman S, et al 2002)²⁰⁴

Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το γεγονός ότι ο Val/Met πολυμορφισμός εμφάνισε μέτρια επίδραση στον κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας, δικαιολογεί και την αποτυχία προηγούμενων ερευνητών να συσχετίσουν την COMT με την ασθένεια. Οι Shifman et al. απέδωσαν την μέτρια επίδραση που παρατηρείται με τον πολυμορφισμό αυτό, στη σχέση του με τον πολυμορφισμό rs737865, για τον οποίο έδειξαν ότι έχει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα για επιρρέπεια στη σχιζοφρένεια ($P=2.3 \times 10^{-4}$) και στον μεγάλο βαθμό ανισορροπίας σύνδεσης (LD) μεταξύ των δύο πολυμορφισμών ($D'=0.85$). Τέλος οι ερευνητές έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός rs165599 παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συσχέτιση με την ασθένεια και επηρεάζει κυρίως τις γυναίκες, ενώ ο rs737865 επηρεάζει εξίσου και τα δύο φύλα. Γίνεται αναφορά λοιπόν σε αυτή τη μελέτη της ύπαρξης κάποιου φυλετικού γενετικού στοιχείου στη σχιζοφρένεια. Συγκεκριμένα, στον Εβραϊκό γενικό πληθυσμό βρέθηκε ότι η συχνότητα του A αλληλίου του SNP rs165599 είναι πολύ μεγαλύτερη στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άνδρες. Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι το G αλληλόμορφο, το οποίο αυξάνει τον κίνδυνο σχιζοφρένειας στις γυναίκες και έχει μικρή συχνότητα

στις γυναίκες, μπορεί επίσης να οδηγεί σε μειωμένη βιωσιμότητα του θηλυκού εμβρύου.

Σε μία μεταγενέστερη μελέτη οι Shifman et al.²⁶⁹ το 2004, προσπάθησαν να εξετάσουν εάν τα αλληλόμορφα κινδύνου της σχιζοφρένειας σχετίζονται και με τη διπολική διαταραχή. Και στις δύο μελέτες την πιο σημαντική συσχέτιση έδωσε ο πολυμορφισμός rs165599 κυρίως στις γυναίκες, και ο G-G απλότυπος των rs737865 και rs165599 ήταν ο απλότυπος κινδύνου για τη διπολική διαταραχή. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι σχιζοφρένεια και διπολική διαταραχή έχουν παρόμοιο γενετικό υπόβαθρο.

Η μελέτη των Chen et al. (2004)²⁷⁰ ανέλυσε τη συσχέτιση COMT με σχιζοφρένεια σε οικογένειες Ιρλανδών, με υψηλό ποσοστό εκδήλωσης της ασθένειας στα μέλη τους. Ο σκοπός της μελέτης ήταν να επαναληφθεί η μελέτη των Εσκενάζυ και να ανακαλυφθούν απλότυποι κινδύνου για τον Ιρλανδικό πληθυσμό. Πράγματι εξετάστηκαν 267 γενεολογικά δέντρα που περιελάμβαναν 1337 άτομα. Στην απλοτυπική ανάλυση ο συνδυασμός A-G-A για rs737865-rs4680-rs165599 έδωσε τη σημαντικότερη συσχέτιση με τη σχιζοφρένεια. Ο απλότυπος A-A-A ήταν ο πιο συχνός στο δείγμα με συχνότητα 35,7% και απαντάται κυρίως στα υγιή άτομα. Στην παραπάνω μελέτη των Chen et al. ο απλότυπος G-G-G είχε συχνότητα 9,7% στο δείγμα των οικογενειών Ιρλανδικής προέλευσης και απαντάται λιγότερο στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σε αντίθεση με τα αντίστοιχα της μελέτης των Shifman et al., όπου στα άτομα Εβραϊκής καταγωγής ο G-G-G απλότυπος είναι ο πιο σημαντικός και ο δεύτερος πιο συχνός απλότυπος, με ποσοστά 27,8% στις περιπτώσεις και 21,9% στους μάρτυρες.

Στη δική μας μελέτη, που αφορούσε δείγμα Ελλήνων ασθενών και μαρτύρων δε μπορέσαμε να επιβεβαιώσουμε κανέναν από τους παραπάνω δύο απλοτύπους κινδύνου G-G-G της μελέτης των Shifman et al και A-G-A της μελέτης των Chen et al. Στο δικό μας δείγμα οι πιο συχνοί απλότυποι είναι οι T-G-G (A-G-G) (με ποσοστά 15,5% σε ασθενείς και 18,6% στους μάρτυρες) και ο T-A-A (A-A-A) (με ποσοστά 26% σε ασθενείς και 20,6% στους μάρτυρες) (Πίνακας 7, σελ.158).

Ο A-A-A απλότυπος είναι ο πιο συνηθισμένος για Έλληνες και Ιρλανδούς, αλλά στους Έλληνες αποτελεί απλότυπο κινδύνου και εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς, ενώ στους Ιρλανδούς απαντάται κυρίως στα υγιή άτομα.

Όσον αναφορά κάθε ένα πολυμορφισμό ξεχωριστά, οι Chen et al. έδειξαν ότι στο δικό τους δείγμα ο rs4680 παρουσίαζε μέτρια συσχέτιση με την ασθένεια, ενώ για τους rs737865 και rs165599 δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση. Οι παραπάνω παρατηρήσεις συμφωνούν και με τη δική μας μελέτη όπου κανένας εκ των τριών πολυμορφισμών δεν παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την ασθένεια.

Το 2005 οι Hadoko et al.²⁶² μελέτησαν τους τρεις μονο-νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) (rs737865, rs4633, rs165599) καθώς και τον Val/Met πολυμορφισμό σε ένα μεγάλο δείγμα οικογενειών από την Αυστραλία με Καυκάσια καταγωγή, οι οποίες συμπεριλάμβαναν 107 ασθενείς με σχιζοφρένεια. Ο Val/Met και ο rs4633 πολυμορφισμός παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με τη σχιζοφρένεια ($P=0.004$) και ήταν σε σχεδόν πλήρη ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους ($\Delta = r = 0.9845$). Από την άλλη πλευρά η απλοτυπική ανάλυση έδωσε ξεκάθαρα συσχέτιση του τριπλού απλότυπου rs737865-rs4680-rs165599 με το συνδυασμό A-G-G προστατευτικός απλότυπος ($P=0.0000068$), ενώ ο συνδυασμός A-A-A αποτελεί τον απλότυπο κινδύνου ($P=0.0266$) που συμφωνεί και με τη δική μας μελέτη. Επίσης οι ερευνητές έδειξαν την ύπαρξη δύο ξεχωριστών, ανεξάρτητων γεγονότων που συμβαίνουν στο γονίδιο της COMT και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, ένα που είναι σε στενή ανισορροπία σύνδεσης με το SNP rs737865 και άλλο ένα που είναι σε στενή ανισορροπία σύνδεσης με το SNP rs4633/rs4680. Οι δύο πολυμορφισμοί rs4680 και rs4633 είναι σε πολύ ισχυρή ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους και είναι αδύνατο να διαχωριστούν. Οι συγγραφείς της παραπάνω μελέτης λαμβάνοντας υπόψη τους τα αντικρουόμενα αποτελέσματα για τη συσχέτιση του Val/Met πολυμορφισμού με τη σχιζοφρένεια συμπεραίνουν ότι υπάρχει μικρή πιθανότητα αυτός ο πολυμορφισμός να προκαλεί την ασθένεια. Το πιο πιθανό είναι αυτός ο πολυμορφισμός να βρίσκεται σε στενή ανισορροπία σύνδεσης με κάποιο άλλο αίτιο που πράγματι προκαλεί την ασθένεια.

Ο Funke et al. (2005)²⁶³ εξέτασαν τους γονοτύπους τεσσάρων παραλλαγών του COMT γονιδίου (Val158Met, rs737865, rs165599 και ενός ακόμη μονονουκλεοτιδικού πολυμορφισμού που βρίσκεται στην περιοχή του P₂ εκκινήτη τον -278A/G ; rs2097603) σε 394 περιπτώσεις ασθενών Καυκάσιας καταγωγής και 497 μάρτυρες. Τα περιστατικά περιελάμβαναν ασθενείς με σχιζοφρένεια (n=196 άτομα), σχιζοσυναισθηματική διαταραχή (n=62), διπολική διαταραχή (n=82), μείζονα

κατάθλιψη (n=30) και τέλος ασθενείς με κάποια ψυχωτική ή καταθλιπτική διαταραχή (n=24). Η ανισορροπία σύνδεσης (LD) μεταξύ των τεσσάρων δεικτών εκτιμήθηκε και στους ασθενείς και στους μάρτυρες. Σε γενικές γραμμές η LD βρέθηκε μεγαλύτερη μεταξύ των SNPs που βρίσκονται στην 5' περιοχή του γονιδίου. Συγκεκριμένα ο πολυμορφισμός -287A/G βρίσκεται σε απόσταση μόνο 2Kb από τον πολυμορφισμό rs737865 και βρίσκεται σε πλήρη ανισορροπία σύνδεσης μαζί του. Επίσης η ανισορροπία σύνδεσης βρέθηκε μεγάλη για το ζευγάρι rs737865 και Val/Met, ενώ ο πολυμορφισμός rs165599 έδειξε μέτρια ανισορροπία σύνδεσης με τον Val/Met. Αυτό το μοντέλο είναι σύμφωνο με τις προηγούμενες μελέτες των Shifman et al.(2002)²⁰⁴ και των Handoko et al.(2004)²⁶². Αντίθετα οι Chen et al.(2004)²⁷⁰ ανέφεραν μέτρια ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ των rs737865 και Val/Met πολυμορφισμού στις Ιρλανδικές οικογένειες που μελέτησαν. Όταν στη μελέτη συμπεριελήφθησαν όλοι οι ασθενείς ανεξάρτητα από τη διάγνωση που τους συνόδευε, βρέθηκε ότι τρία από τα τέσσερα SNPs σχετίζονται σημαντικά με τη διάγνωση, ανεξάρτητα με το ποια είναι. Αυτά είναι τα -278A/G, Val108/158Met και rs165599. Όταν τα περιστατικά περιορίστηκαν στους ασθενείς με διάγνωση αποκλειστικά σχιζοφρένεια, μόνο ο πολυμορφισμός του εκκινήτη (-278A/G) παρέμενε στατιστικά σημαντικός (p=0.0011; OR=1.39). Η απλοτυπική ανάλυση αποκάλυψε την ύπαρξη ενός πιθανού προστατευτικού απλοτύπου του G-A-A-A, ο οποίος εμφανίζεται σε σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα στους ασθενείς στην περίπτωση που συμπεριλαμβάνονται όλοι ανεξάρτητα από τη διάγνωσή τους σε σχέση με τους μάρτυρες. Ο απλότυπος αυτός παρέμενε σημαντικός όταν εξετάστηκε μόνη της η υποκατηγορία ασθενών με διάγνωση σχιζοφρένεια. Αυτός ο προστατευτικός απλότυπος αποτελείται από τα αντιστροφα αλληλόμορφα του απλοτύπου κινδύνου της μελέτης των Shifman et al. Ενώ στη δική μας μελέτη ο προστατευτικός απλότυπος της μελέτης των Funke et al. αποτελεί τον απλότυπο κινδύνου.

Ο παρακάτω πίνακας περιγράφει τη συχνότητα του G-A-A-A απλοτύπου σε ασθενείς με διάφορες ψυχιατρικές ασθένειες στη μελέτη των Funke et al.

Πίνακας 2.

	cases	controls	Haplotype-specific p-values
All	0.2226	0.2809	0.0033
SCZ+SA	0.2282	0.2809	0.0191
SCZ	0.2297	0.2809	0.0361
SA	0.2255	0.2809	0.1641
BP + MD	0.2188	0.2809	0.0343
BP	0.2383	0.2809	0.1886
MD	0.1554	0.2809	0.0378

Funke et al. *Behavioral and Brain Functions* 2005 **1**:19 doi:10.1186/1744-9081-1-19

Οι Chien et al.²⁷¹ (2009) θέλησαν να εξετάσουν τη συσχέτιση των τριών μονονουκλεοδικών πολυμορφισμών με τη σχιζοφρένεια και με τη γνωσιακή λειτουργία σε μία μελέτη που πραγματοποίησαν στην Ταϊβάν. Σχεδίασαν μία μελέτη ασθενών-μαρτύρων που περιελάμβανε 124 ασθενείς με σχιζοφρένεια και 112 υγιείς μάρτυρες, και συγχρόνως μία δεύτερη μελέτη οικογενειών που περιελάμβανε 83 οικογένειες που τουλάχιστον δύο μέλη τους είχαν εκδηλώσει την ασθένεια. Τα συμπεράσματά τους είναι: ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση των τριών μονονουκλεοδικών πολυμορφισμών με τη σχιζοφρένεια στην μελέτη ασθενών-μαρτύρων. Ενώ στη μελέτη οικογενειών, η A παραλλαγή του rs165599 παρουσίαζε μεγαλύτερη συχνότητα στα νοσούντα μέλη της οικογένειας ($p=0,023$) και βρέθηκε ότι σχετίζεται σημαντικά με έναρξη της ασθένειας σε μεγαλύτερη ηλικία, περισσότερο σοβαρά θετικά συμπτώματα, όπως ψευδαισθήσεις και παραισθήσεις, και φτωχότερη ανταπόκριση στα τεστ εκτίμησης της γνωσιακής λειτουργίας. Όσο αναφορά τον τριπλό απλότυπο οι ερευνητές δεν βρήκαν σημαντική συσχέτιση ούτε με τη σχιζοφρένεια, ούτε με τη γνωσιακή λειτουργία.

Παρατηρούμε λοιπόν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές από μελέτη σε μελέτη και κυρίως όταν αυτές αφορούν άτομα διαφορετικής καταγωγής Ευρωπαϊκής ή Ασιατικής. Η ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ των τριών πολυμορφισμών στους Ασιάτες βρέθηκε πολύ χαμηλότερη από την αντίστοιχη των Ευρωπαίων. Έτσι λοιπόν,

είναι πιθανόν οι εθνικές διαφορές του πληθυσμού, που κάθε φορά μελετάται, να αντανakλά διαφορετική δομή ανισορροπίας σύνδεσης για το γονίδιο της COMT, και έτσι να εξηγείται η αδυναμία συμφωνίας των αποτελεσμάτων των μελετών.

Στους περισσότερους ιστούς που χρησιμοποιούνται στα πειράματα, η μορφή που κυριαρχεί είναι η S-COMT, πράγμα το οποίο δε συμβαίνει στον εγκέφαλο όπου κυριαρχεί η MB-COMT. Σύμφωνα με τη μελέτη των Bray et al.(2003)²⁷², στον ανθρώπινο εγκέφαλο τα Val αντίγραφα έχουν χαμηλότερη έκφραση σε σχέση με τα αντίγραφα που κωδικοποιούν το Met αλληλόμορφο. Έτσι, άτομα που είναι ομοζυγώτες για το Val αλληλόμορφο είναι πιθανό να έχουν χαμηλότερη δραστηριότητα της COMT στον εγκέφαλό τους σε σχέση με το αίμα ή το ήπαρ τους. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι ο G-G-G απλότυπος των rs737865-rs4680-rs165599 σχετίζεται με μειωμένη έκφραση του mRNA και συνεπώς μειωμένη έκφραση της COMT. Η εξήγηση που έδωσαν οι συγγραφείς είναι ότι, η μειωμένη έκφραση της COMT που βρέθηκε στο πείραμα, συμφωνεί με την υπόθεση της αυξημένης δραστηριότητας της ντοπαμίνης, διότι μειωμένη έκφραση της COMT αναμένεται να οδηγήσει σε αύξηση της ντοπαμίνης.

Παρόλα αυτά, η παραπάνω εξήγηση παρουσιάζει ένα μειονέκτημα. Αύξηση της ντοπαμίνης παρατηρείται στο ραβδωτό σώμα και όχι στον φλοιό. Οι συγγραφείς, όμως, χρησιμοποίησαν δείγμα νεκροτομικού ιστού εγκεφάλου από τον μετωπιαίο, βρεγματικό και κροταφικό φλοιό. Σύμφωνα με τη νεώτερη θεωρία της ντοπαμίνης για τους σχιζοφρενείς στον φλοιό αναμένουμε μειωμένα επίπεδα ντοπαμίνης και συνεπώς αυξημένη δράση της COMT.

Συνεπώς, το παραπάνω συμπέρασμα εξαρτάται από την περιοχή του εγκεφάλου που εξετάζουμε, διότι έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η Val παραλλαγή της COMT, περιορίζοντας το σήμα της ντοπαμίνης του προμετωπιαίου φλοιού μπορεί έμμεσα να οδηγήσει σε λιγότερη αναστολή της μεσεγκεφαλικής ντοπαμινικής δραστηριότητας, κυρίως στους νευρώνες που προβάλλουν στο ραβδωτό σώμα. Τα επίπεδα της ντοπαμίνης στον προμετωπιαίο φλοιό και στο ραβδωτό σώμα συνδέονται αντίστροφα.

Ένα ακόμη παράδοξο που προκύπτει είναι: πώς είναι δυνατόν το Val108/158Met αλληλόμορφο το οποίο αυξάνει τη δράση του ενζύμου τρεις με τέσσερις φορές και είναι πιο θερμοσταθερό (G αλληλόμορφο) από το A (M αλληλόμορφο) και να παρουσιάζει μειωμένη έκφραση του mRNA της COMT.

Οι διαφορές μεταξύ των δύο ισομορφών της της COMT, S-COMT και MB-COMT θα μπορούσαν ίσως να δώσουν μία εξήγηση για την παραπάνω αντίφαση. Έτσι, για παράδειγμα, η θερμοσταθερότητα του Val αλληλόμορφου μπορεί να ισχύει σε μικρότερο βαθμό για την MB ισομορφή της COMT, που κυριαρχεί στον εγκέφαλο.

Μία άλλη εκδοχή θα μπορούσε να είναι ότι αυτή η αυξημένη (τρεις με τέσσερις φορές) δραστηριότητα του Val^{108/158} αλληλόμορφου του Val^{108/158}Met πολυμορφισμού αντισταθμίζει την 22-24% μείωση της έκφρασης του mRNA, έτσι ώστε το καθαρό αποτέλεσμα να είναι αυξημένη δραστηριότητα της COMT. Συνεπώς το μεγαλύτερο επίπεδο έκφρασης του Met158 μερικώς μόνο αμβλύνει την ανεπάρκεια στη δράση του ενζύμου, που παρατηρείται με αυτή την παραλλαγή. Με άλλα λόγια ο Val158Met πολυμορφισμός επηρεάζει και την έκφραση του mRNA αλλά και την ενζυμική δραστηριότητα του ενζύμου της COMT, αλλά σε αντίθετες κατευθύνσεις, και το τελικό αποτέλεσμα είναι 30% χαμηλότερη ενζυμική δραστηριότητα με το Met158 αλληλόμορφο.²⁷³

Οι Lotta et al.¹⁵⁰ μελέτησαν την πρωτεΐνη της διαλυτής COMT (S-COMT, όπου ο Val/Met πολυμορφισμός στο εξώνιο 4 βρίσκεται στο αμινοξύ 108 της S-COMT) και θέλησαν να συγκρίνουν τις κινητικές ιδιότητες και τη θερμοσταθερότητα των δύο παραλλαγών Val/Met της S-COMT. Η μελέτη έδειξε ότι η καταλυτική ικανότητα των δύο παραλλαγών είναι η ίδια, αλλά η Met108 μορφή του ενζύμου είναι πιο θερμοευαίσθητη στη φυσιολογική θερμοκρασία (37°C). Συνεπώς οι ερευνητές δεν εντόπισαν κάποια διαφορά στην κινητική του ενζύμου μεταξύ Val και Met παραλλαγής. Αναφέρουν όμως ότι το ένζυμο Met108 σταθεροποιείται πλήρως κατά την πρόσδεσή του με την AdoMet/SAM, που προσφέρει τη μεθυλική ομάδα στην αντίδραση μεθυλίωσης. Έτσι η δραστηριότητα της θερμοευαίσθητης COMT μορφής πρέπει φυσιολογικά να ρυθμίζεται από την διαθεσιμότητα της AdoMet/SAM. Απουσία της AdoMet/SAM, η Met παραλλαγή (χαμηλής δράσης A αλληλόμορφο) είναι θερμοευαίσθητη ενώ η Val παραλλαγή (υψηλή δράση G αλληλόμορφο) δεν είναι. Παρουσία του συνενζύμου AdoMet/SAM δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην θερμοσταθερότητα των δύο παραλλαγών. Τα αποτελέσματα των Lotta et al. δηλώνουν ότι ο υψηλής και χαμηλής δραστηριότητας πολυμορφισμός οφείλεται στις διαφορετικές θερμοσταθερότητες των δύο ενζυματικών μορφών, παρά στις κινητικές τους ιδιότητες. Πράγματι το αμινοξύ Val108Met στο εξώνιο 4 βρίσκεται στην απέναντι πλευρά της S-COMT πρωτεΐνης από την ενζυματική περιοχή και δε

συμβάλλει στην ενεργό περιοχή του ενζύμου. Έτσι, αλλαγές διαμόρφωσης της ενεργούς περιοχής του ενζύμου δεν ευθύνονται για τις διαφορές θερμοευαισθησίας και ενζυμικής δραστηριότητας που παρατηρούνται με τα διαφορετικά αμινοξέα σε αυτήν την περιοχή. Παρόλα αυτά, οι Lotta et al. επισήμαναν ότι υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της α-έλικας και β-κλώνου μέσα στη δομή της S-COMT μεταξύ της περιοχής 108 του αμινοξέος και του σημείου πρόσδεσης με την AdoMet. Ίσως το Met αλληλόμορφο της S-COMT πρωτεΐνης να έχει μία διαφορετική διαμόρφωση που να επηρεάζει την πρόσδεση με την AdoMet/SAM. Οι Lotta et al. ανέφεραν ότι η MB-COMT παρουσιάζει μεγαλύτερη συγγένεια για την ντοπαμίνη, γεγονός που κάνει την MB-COMT πιο σημαντική από την S-COMT για τα φυσιολογικά επίπεδα ντοπαμίνης του εγκεφάλου, αλλά παρουσιάζει ταυτόχρονα μικρότερη καταλυτική δράση από την S-COMT. Δεν γνωρίζουμε εάν αυτή η μεγαλύτερη συγγένεια οφείλεται στη ύπαρξη περισσότερων αμινοξέων της MB-COMT ή σε κάποιο άλλο παράγοντα που να σταθεροποιεί την πρωτεΐνη κατά την αλληλεπίδρασή της με την ντοπαμίνη.

Μελέτες ανάλυσης της κρυσταλλικής δομής της COMT πρωτεΐνης έδειξαν ότι το αμινοξύ στον Val/Met πολυμορφισμό βρίσκεται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης.²⁷³ Από μελέτες μηχανικής της πρωτεΐνης προκύπτει ότι ένα ένζυμο είναι πιο σταθερό, εάν περιέχει ένα υδρόφοβο αμινοξύ στην επιφάνειά του. Η περιοχή που περιλαμβάνει το Val αμινοξύ είναι περισσότερο υδρόφοβη από την αντίστοιχη που εμπεριέχει το Met αμινοξύ. Συνεπώς ο Val πολυμορφισμός προσδίδει μεγαλύτερη σταθερότητα στο ένζυμο από τον Met πολυμορφισμό.²⁷⁴

Η μελέτη των Chen et al.¹⁴³ αποτελεί την πρώτη μελέτη που δείχνει ότι υπάρχει σημαντική διαφορά στη δραστηριότητα του COMT ενζύμου στον ανθρώπινο εγκέφαλο και ειδικότερα ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ Val και Met γονοτύπου στον ραχιοπλευρικό πρωμετωπιαίο φλοιό. Η δράση ενός ενζύμου μεταβάλλεται είτε όταν αλλάζουν τα επίπεδα του mRNA, είτε όταν επηρεασθεί η ακεραιότητα της πρωτεΐνης του ενζύμου. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η ενζυμική δραστηριότητα της COMT-Val είναι 40% υψηλότερη σε σχέση με αυτή της COMT-Met. Αυτή η διαφορά είναι χαμηλότερη από την 2-4 φορές διαφορά που αναφέρεται στην S-COMT.¹⁵⁰ Επιπλέον οι ερευνητές αναφέρουν ότι δεν βρήκαν οVal158Met πολυμορφισμός να επηρεάζει τα επίπεδα έκφρασης του mRNA της COMT.

Συνεπώς υπάρχουν δύο μελέτες που δεν μπόρεσαν να επαναλάβουν τα ευρήματα των Bray et al. Οι Tunbridge et al.²²⁵ εξέτασαν mRNA προερχόμενο από τον προμετωπιαίο φλοιό και δεν μπόρεσαν να ανιχνεύσουν διαφορές στα επίπεδα έκφρασης στις ομάδες γονοτύπων του Val158Met πολυμορφισμού. Επίσης, όπως ήδη αναφέρθηκε οι Chen et al.¹⁴³ δεν μπόρεσαν να βρουν κάποια συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών της COMT και της έκφρασης του mRNA. Βρήκαν όμως ότι ο Val158Met πολυμορφισμός επηρεάζει σημαντικά την πρωτεϊνική ποσότητα και την ενζυμική δραστηριότητα ανεξάρτητα από την έκφραση του mRNA, επιβεβαιώνοντας την θερμοευαισθησία της Met υποκατάστασης.

Πολλοί παράγοντες μπορούν να εξηγήσουν αυτές τις ασυμφωνίες μεταξύ των μελετών.

Είναι πιθανό ότι κάποια άλλη λειτουργική παραλλαγή κάπου αλλού εκτός COMT γονιδίου να μεσολαβεί για την υποτιθέμενη Val158Met επίδραση σε μερικούς πληθυσμούς μέσω ανισορροπίας σύνδεσης. Έτσι για παράδειγμα η παρατήρηση ότι ο Val158Met πολυμορφισμός είναι σε στενή ανισορροπία σύνδεσης με παραλλαγές του εγγύς γονιδίου ARVCF μπορεί να οδηγούν στις αλλαγές της έκφρασης που σχετίζονται με τους συγκεκριμένους γονότυπους της COMT και αναφέρονται στην μελέτη των Bray et al.²⁷² των Zhu et al.²⁷⁵ και των Dempster et al.²²⁶

Είναι επίσης πιθανό, το επίπεδο της έκφρασης να ρυθμίζεται από κάποιο άλλο πολυμορφισμό, για παράδειγμα τον rs737865 που βρίσκεται πιο κοντά στον υποκινητή P₂ για την μεταγραφή της MB-COMT. Οι Bray et al.²⁷² ανέφεραν στη μελέτη τους ότι ο rs737865 πολυμορφισμός μπορεί να μην έχει καμία περιφερική δράση στην διαλυτή μορφή της S-COMT, από τη στιγμή που η διαλυτή μορφή της COMT μεταγράφεται με τη βοήθεια ξεχωριστού υποκινητή που βρίσκεται στο 3' άκρο του rs737865, αλλά να παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία της MB-COMT.

Τέλος, δε γνωρίζουμε τη σχετική συμβολή της S και MB μορφή της COMT στην ολική ενζυμική δραστηριότητα του ενζύμου. Επιπλέον, επειδή οι μελέτες έκφρασης του mRNA της COMT στον εγκέφαλο έχουν γίνει σε νεκροτομικό ιστό, δε μπορούμε να υπολογίσουμε τί μέρος της ολικής *in vivo* δραστηριότητας διατηρείται στο νεκροτομικό ιστό.

Η δική μας μελέτη θα μπορούσαμε να πούμε ότι συμφωνεί με τα ευρήματα των Bray et al.²⁷² διότι εφόσον οι ερευνητές χρησιμοποίησαν στη μελέτη τους ιστούς εγκεφάλου από τον μετωπιαίο, βρεγματικό ή κροταφικό φλοιό ο G-G-G απλότυπος

που παρουσιάζει μειωμένη έκφραση COMTmRNA στον φλοιό, παρουσιάζει αυξημένα επίπεδα στο ντοπαμίνης στο φλοιό και μειωμένα επίπεδα υποφλοιϊκά. Ενώ ο αντίστροφος A-A-A απλότυπος, που είναι ο απλότυπος κινδύνου για τη μελέτη μας, ο οποίος έχει τη μεγαλύτερη συχνότητα στους Έλληνες σχιζοφρενείς, σχετίζεται με μεγαλύτερη έκφραση του COMT γονιδίου, γεγονός που συμφωνεί με την νεώτερη υπόθεση της υπολειτουργίας του προμετωπιαίου φλοιού Egan et al.¹¹¹. Έχει επίσης βρεθεί ότι τα επίπεδα της COMTmRNA στον προμετωπιαίο φλοιό είναι σημαντικά υψηλότερα εν σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα στο ραβδωτό σώμα.(Matsumoto et al.2003)²⁷⁶

Για να μελετήσουμε περαιτέρω το εύρημα σχετικά με την επιβαρυντική δράση του T-A-A απλοτύπου και την προστατευτική δράση του T-G-G, διερευνήσαμε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς γονοτύπων, από τους οποίους μπορούν να προέλθουν οι παραπάνω απλότυποι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι την πιο συχνή έκφραση στο δείγμα μας παρουσίασε ο γονότυπος T/T-A/A-A/A (37.4%) και τα άτομα που τον φέρουν είναι ομοζυγώτες για τα αλληλόμορφα T-A-A και των τριών πολυμορφισμών που μελετήθηκαν. Όταν αλλάζει ένα αλληλόμορφο στον rs737865 πολυμορφισμό και το άτομο είναι ετεροζυγώτης για αυτόν τον πολυμορφισμό αυξάνει πολύ ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου. Συγκεκριμένα τα άτομα με έκφραση T/C-A/A-A/A έχουν 2,13 φορές περισσότερες πιθανότητες να εκδηλώσουν τη νόσο σε σχέση με τα άτομα που φέρουν την έκφραση αναφοράς T/T-A/A-AA. Ο απλότυπος T/C-A/A-A/A εμφανίζεται με συχνότητα 11,4% στον πληθυσμό μας. Επιπλέον τα άτομα με γονότυπο T/T-A/A-G/A, δηλαδή άτομα που είναι ομοζυγώτες για τους δύο πρώτους πολυμορφισμούς και είναι ετεροζυγώτες για τον rs165599, έχουν 3,20 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν τη νόσο σε σχέση με τον απλότυπο αναφοράς. Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι στη μελέτη μας οι πολυμορφισμοί rs737865 και rs165599 παίζουν σημαντικό ρόλο και μία αλλαγή στον γονότυπο αυτών των πολυμορφισμών αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Πίνακας 9 σελ.161).

Όσο για τον απλότυπο T-G-G που στο δείγμα μας αποτελεί τον προστατευτικό απλότυπο βρέθηκε ότι τα άτομα που είχαν γονότυπο T/T-G/G-G/G, δηλαδή είναι ομοζυγώτες και για τους τρεις πολυμορφισμούς έχουν μικρότερο σχετικό κίνδυνο να αναπτύξουν τη νόσο (ΣΚ=0,22) σε σχέση με τον απλότυπο αναφοράς που είναι και πάλι ο πιο συχνός απλότυπος και είναι ο T/T-G/A-G/A. Παρόμοια και τα άτομα με γονότυπο T/T-G/A-G/G, δηλαδή άτομα που είναι ετεροζυγώτες μόνο για τον

πολυμορφισμό rs4680 παρουσιάζουν 33% λιγότερη πιθανότητα να εκδηλώσουν τη νόσο σε σχέση με τα άτομα που φέρουν το γονότυπο αναφοράς (Πίνακας 10 σελ162).

Από όλα τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η ταυτοποίηση των εμπλεκόμενων πολυμορφισμών επιρρέπειας στο γονίδιο της COMT έχει αποδειχθεί μία προσπάθεια δύσκολη και συχνά απογοητευτική. Διαφορετικές μελέτες έχουν δείξει διαφορετικές τριπλέτες κινδύνου για τους τρεις πολυμορφισμούς που μελετήσαμε.

Μία εξήγηση για τη δυσκολία αυτή είναι το γεγονός ότι τα σύνδρομα που καθορίζονται από το Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV) (Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο των Ψυχικών Διαταραχών) περιλαμβάνουν ετερογενείς φαινοτύπους και ορίστηκαν βάσει της συναίνεσης των ειδικών, με αποτέλεσμα να μην είναι ιδανικοί ως φαινότυποι για γενετικές αναλύσεις. Οι διαγνώσεις που απαριθμούνται στο DSM-IV είναι περιγραφικά σύνδρομα. Εντός κάθε διαγνωστικής κατηγορίας, τα άτομα μπορεί να είναι φαινοτυπικά και γενετικά ετερογενή. Επιπρόσθετα, τα στοιχεία μέχρι σήμερα δείχνουν ότι τα κοινά ψυχιατρικά νοσήματα είναι πολύπλοκες διαταραχές που αντικατοπτρίζουν την επίδραση πολλών γονιδίων με μεμονωμένα μικρή επίδραση. Αυτός ο συνδυασμός φαινοτυπικής και γενετικής πολυπλοκότητας έχει κάνει δύσκολη την ανακάλυψη γονιδίων επιρρέπειας. Για να αντιμετωπιστούν οι αβεβαιότητες σχετικά με τον ορισμό των φαινοτύπων, έχει προταθεί η χρησιμοποίηση των ενδοφαινοτύπων στις γενετικές αναλύσεις.²⁷⁷ Ο ενδοφαινότυπος εκφράζει πιο άμεσα τις γονιδιακές επιδράσεις. Με αυτό τον τρόπο μειώνεται η ετερογένεια και έτσι βελτιώνονται τα μεγέθη επίδρασης και διευκολύνεται η έρευνα για τα γονίδια και τις παραλλαγές επιρρέπειας. Οι ενδοφαινότυποι είναι κληρονομήσιμα, συνδεδεόμενα με ασθένειες νευροφυσιολογικά, νοητικά ή νευροβιολογικά χαρακτηριστικά που πιστεύεται ότι βρίσκονται στην αιτιολογική οδό, δηλαδή ενδιάμεσα, μεταξύ του γονοτύπου κινδύνου και του κλινικού συνδρόμου, αλλά σχετίζονται στενότερα με το γενετικό υπόστρωμα από ότι η διαταραχή ως σύνολο. Χαρακτηριστικές κατηγορίες ενδοφαινοτύπων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια θα μπορούσε να είναι: δυσλειτουργία πλαγιοπίσθιου προμετωπιαίου φλοιού, μετρήσεις προσοχής, της εκτελεστικής λειτουργίας, της λειτουργούσας μνήμης, της ταχύτητας επεξεργασίας πληροφοριών κ.α.^{264,265}

Μία επιπλέον εξήγηση για τα αντιφατικά αποτελέσματα μεταξύ των διαφόρων μελετών είναι η διαφορετική εθνικότητα των διαφόρων πληθυσμών μελέτης. Έτσι για παράδειγμα οι Εβραίοι Εσκενάζυ μπορεί να μην είναι άμεσα συγκρίσιμοι με τους υπόλοιπους Ευρωπαίους. Είναι πιθανό ο απλότυπος κινδύνου για τους Εσκενάζυ να συμβάλλει διαφορετικά στην επιρρέπεια της ασθένειας ανάλογα με την εθνικότητα του υπό εξέταση πληθυσμού, ίσως λόγω της ύπαρξης επιπλέον προστατευτικών ή προδιαθεσικών παραλλαγών και σε άλλες περιοχές εκτός του COMT γονιδίου.

Πληθυσμιακές γενετικές μελέτες του λειτουργικού πολυμορφισμού Val158Met έχουν δείξει πολυμορφία σε όλους τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν, αλλά και διαφορετική συχνότητα αλληλίων ανάλογα με τον πληθυσμό και την περιοχή προέλευσης. Οι Palmatier et al. (1999)¹⁵¹ στη μελέτη τους προσδιόρισαν το γονότυπο της COMT σε 1314 άτομα από 30 διαφορετικούς πληθυσμούς παγκοσμίως και υπολόγισαν τη συχνότητα του κάθε αλληλίου Val και Met για τον κάθε πληθυσμό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι Ευρωπαίοι είναι σε μεγαλύτερο ποσοστό ετεροζυγώτες σε σύγκριση με άλλους πληθυσμούς και τα δύο αλληλόμορφα εμφανίζονται περίπου με την ίδια συχνότητα. Στον υπόλοιπο κόσμο παρατηρείται μεγαλύτερη συχνότητα του Val αλληλίου της COMT και είναι λιγότεροι οι ετεροζυγώτες. Συγκεκριμένα φάνηκε ότι το 18-27% ατόμων της Καυκάσιας φυλής, 1,15% ατόμων Ασιατικής καταγωγής, 7% ατόμων της μαύρης φυλής και το 28% ατόμων Σάαμι (μίας εθνικότητας στη Βόρεια Νορβηγία) παρουσιάζουν χαμηλή ενζυμική δραστηριότητα της COMT.

Εν συνεχεία της παραπάνω μελέτης, οι ερευνητές προσπάθησαν να προσδιορίσουν τη συχνότητα του απλοτύπου κινδύνου για την μελέτη των Shifman et al., δηλαδή του απλοτύπου G-G-G σε διάφορους πληθυσμούς. Έτσι βρέθηκε ότι η συχνότητα του απλοτύπου κυμαίνεται από 0% στη Ν.Αμερική έως 37,1% Νοτιοδυτική Ασία, παρόλο που η σχιζοφρένεια εμφανίζεται με την ίδια συχνότητα σε όλο τον κόσμο.²⁷⁸ Συμπερασματικά, η συχνότητα του απλοτύπου που εμπλέκεται στην παθογένεια της σχιζοφρένειας ποικίλλει σημαντικά ανά τον κόσμο, γεγονός που πρέπει να το λαμβάνουμε πάντοτε υπόψη μας όταν προσπαθούμε να συμφιλιώσουμε στοιχεία από μελέτες διαφορετικών πληθυσμών.

Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να συμβάλλει σε λανθασμένα συμπεράσματα σε μία μελέτη, είναι η πληθυσμιακή ετερογένεια μέσα στο υπό μελέτη δείγμα. Πληθυσμιακή ετρογένεια προκύπτει όταν το δείγμα που μελετάται προέρχεται από άτομα με διαφορετικό εθνικό υπόστρωμα. Επιπλέον, απαιτείται προσεκτική και

ακριβής αντιστοιχία ασθενών- υγιών μαρτύρων. Εάν οι ασθενείς από άγνωστη ή μη εκτιμώμενη ετερόγενεια δεν αντιπροσωπεύουν τον ίδιο πληθυσμό με τους μάρτυρες, είναι πιθανό η συχνότητα των αλληλίων να διαφέρει μεταξύ των δύο ομάδων, οδηγώντας σε λανθασμένη συσχέτιση ενός συγκεκριμένου αλληλίου με την ασθένεια.²⁷⁸

Γι' αυτό και στη μελέτη μας συμπεριλάβαμε άτομα αποκλειστικά και μόνο Ελληνικής καταγωγής.

Συμπερασματικά, η μελέτη μας δεν αποδεικνύει ότι ο Val/Met πολυμορφισμός, ο περισσότερο μελετημένος πολυμορφισμός λόγω του λειτουργικού του ρόλου, από μόνος του, παίζει κάποιον αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεια της σχιζοφρένειας στον Ελληνικό πληθυσμό. Παρόλα αυτά, η μελέτη μας επιβεβαίωσε τη γενετική συμβολή της COMT στη σχιζοφρένεια με την ύπαρξη επιπλέον παραλλαγών στο γονίδιο της, που ο συνδυασμός τους με τον Val/Met πολυμορφισμό αυξάνει τις πιθανότητες εκδήλωσης της ασθένειας.

Μία αδυναμία της έρευνάς μας αποτελεί το μικρό μέγεθος του δείγματος. Είναι απαραίτητο να γίνουν και άλλες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και μαρτύρων, οι οποίες θα μας επιτρέψουν να ερμηνεύσουμε με περισσότερη ασφάλεια την επίδραση των τριών σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών και των απλοτύπων τους στον κίνδυνο εκδήλωσης της σχιζοφρένειας, στον ελληνικό πληθυσμό.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Heinrichs RW (2003). "Historical origins of schizophrenia: two early madmen and their illness". *J Hist Behav Sci* 39 (4): 349–63.
2. Kraepelin, E. (1907). *Text book of psychiatry*. Diefendorf A.R. (7 ed.). London: Macmillan.
3. Conti, Norberto Aldo (2003). "[Benedict Augustin Morel and the origin of the term dementia praecox]". *Vertex* (Buenos Aires, Argentina) 14 (53): 227–31.
4. Kuhn R; (2004). tr. Cahn CH. "Eugen Bleuler's concepts of psychopathology". *Hist Psychiatry* 15 (3): 361–6.
5. Goldner EM, Hsu L, Waraich P, Somers JM. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: A systematic review of the literature. *Can J Psychiatry*. 2002;47:833–843.
6. Castle D, Wessely S, Der G, Murray RM. The incidence of operationally defined schizophrenia in Camberwell, 1965-84. *The British Journal of Psychiatry*. 1991;159:790–4.
7. James A. Stigma of mental illness. *Lancet*. 1998;352:1048.
8. Van Dorn R, Swanson J, Elbogen E, Swartz M. A comparison of stigmatizing attitudes toward persons with schizophrenia in four stakeholder groups: perceived likelihood of violence and desire for social distance. *Psychiatry*. 2005;68:152–163.
9. Kuipers L. Family burden in schizophrenia: implications for services. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 1993; 28:207–210
10. Caqueo-Urizar A, Gutiérrez-Maldonado J. Burden of Care in Families of Patients with Schizophrenia. *Qual Life Res*. 2006;**15**:719–724.
11. Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee, Cichon S, Craddock N, Daly M, Faraone SV, Gejman PV, Kelsoe J, Lehner T, Levinson DF, Moran A, Sklar P, Sullivan PF. Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*. 2009 May;166(5):540-56.
12. Roth TL, Lubin FD, Sodhi M, Kleinman JE. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Sep;1790(9):869-77.
13. Selten JP, Cantor-Graae E, Kahn RS. Migration and schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry*. 2007 [cited 2008-07-06];20(2):111–115.

-
14. Schenkel LS. Histories of childhood maltreatment in schizophrenia: Relationships with premorbid functioning, symptomatology, and cognitive deficits. *Schizophrenia Research*. 2005;76(2–3):273–286.
 15. Blanchard JJ, Brown SA, Horan WP, Sherwood AR: Substance use disorders in schizophrenia: review, integration, and a proposed model. *Clin Psychol Rev* 2000; 20:207–234
 16. Løberg EM, Hugdahl K. Cannabis use and cognition in schizophrenia. *Front Hum Neurosci*. 2009;3:53.
 17. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)* Washington, DC: American Psychiatric Press; 1994.
 18. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The Positive and Negative Syndrome Scale for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 1987;13:261–276.
 19. Muesser, K.T., McGurk, S.R. Schizophrenia. *Lancet* 2004;363, 2063-2072.
 20. Jakobsen KD. Reliability of clinical ICD-10 schizophrenia diagnoses. *Nordic Journal of Psychiatry*. 2005;59(3):209–12.
 21. Velligan DI and Alphas LD. Negative Symptoms in Schizophrenia: The Importance of Indefication and Treatment. *Psychiatric Times*. March 1, 2008;25(3).
 22. Green MF. Cognitive impairment and functional outcome in schizophrenia and bipolar disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2006;67(Suppl 9):3–8.
 23. Fenton WS, McGlashan TH (1991). "Natural history of schizophrenia subtypes. I. Longitudinal study of paranoid, hebephrenic, and undifferentiated schizophrenia". *Arch. Gen. Psychiatry* 48 (11): 969–77.
 24. Kleinhaus K, Harlap S, Perrin MC, Manor O, Weiser M, Harkavy-Friedman JM, Lichtenberg P, Malaspina D. Catatonic Schizophrenia: A Cohort Prospective Study. *Schizophr Bull*. 2010 Aug 6.
 25. Crow, T.J. (1980) Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process? *British Medical Journal* 280, 66 - 68.
 26. Bustillo, J., Lauriello, J., Horan, W., Keith, S. The psychosocial treatment of schizophrenia : An update. *Am J Psychiatry*. 2001;158:163-175.
 27. Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, et al., for the Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness

-
- (CATIE) Investigators. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*. 2005;353:1209–23.
28. Liberman RP, Wallace CJ, Blackwell G, Kopelowicz A, Vaccaro JV, Mintz J. Skills training versus psychosocial occupational therapy for persons with persistent schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1998;155:1087–91.
29. McFarlane WR, Dixon L, Lukens E, Lucksted A. Family psychoeducation and schizophrenia: a review of the literature. *J Marital Fam Ther*. 2003;29:223–45.
30. Tauber R, Wallace CJ, Lecomte T. Enlisting indigenous community supporters in skills training programs for persons with severe mental illness. *Psychiatr Serv*. 2000;51:1428–32.
31. Lehmann HE. Before they called it psychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 1993 Jun;8(4):291-303.
32. Domino EF. History of modern psychopharmacology: a personal view with an emphasis on antidepressants. *Psychosom Med*. 1999 Sep-Oct;61(5):591-8.
33. Carlsson A, Lindqvist M. effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol(Copenh)*. 1963; 20:140-4.
34. Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding: differentiation of agonist and antagonist states with 3H-dopamine and 3H-haloperidol. *Life Sci*. 1975 Sep 15;17(6):933-1001.
35. Delay J, Deniker P, Harl JM. [Therapeutic use in psychiatry of phenothiazine of central elective action (4560 RP)]. *Ann Med Psychol (Paris)*. 1952 Jun;110(2:1):112-7.
36. King C, Voruganti LN. What's in a name? The evolution of the nomenclature of antipsychotic drugs. *J Psychiatry Neurosci*. 2002 May;27(3):168-75. Review.
37. Seeman, P.: Dopamine receptor sequences. Therapeutic levels of neuroleptics occupy D2, clozapine occupies D4. *Neuropsychopharmacology*. 7: 261-284 (1992).
38. Goodman LS, Gilman A, Hardman JG, Limbird LE. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York, N.Y.: McGraw-Hill, 2001:500–6.

-
39. Geddes J, Freemantle N, Harrison P, Bebbington P. Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. *BMJ*. 2000;321:1371–6.
 40. NICE. Guidance on the use of newer (atypical) antipsychotic drugs for the treatment of schizophrenia. London: National Institute for Clinical Excellence, 2002
 41. Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, et al. (2006). "Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia". *CNS Drugs* 20 (5): 389–409.
 42. Jones PB, Barnes TRE, Davies L, Dunn G, Lloyd H, Hayhurst KP, et al. Randomised controlled trial of the effect on quality of life of second- vs first-generation antipsychotic drugs in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 2006;63:1079-1087.
 43. Lehmann HE, Ban TA. The history of the psychopharmacology of schizophrenia. *Can J Psychiatry*. 1997 Mar;42(2):152-62.
 44. Sawa A, Snyder SH. Schizophrenia: neural mechanisms for novel therapies. *Mol Med*. 2003 Jan-Feb;9(1-2):3-9. Review.
 45. Broome MR, Wooley JB, Tabraham P, Johns LC, Bramon E, Murray GK, et al. What causes the onset of psychosis? *Schizophrenia Research* 2005;79:23-34.
 46. Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*. 1976 Jun 24;261(5562):717-9.
 47. Kapur S, Remington G. Atypical antipsychotics: new directions and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Annu Rev Med*. 2001;52:503-17. Review.
 48. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1991 Oct;148(10):1301-8. Review.
 49. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB Jr, Charney DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*. 1994 Mar;51(3):199-214.

-
50. Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2001 Sep;158(9):1367-77. Review.
 51. Jablensky A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 2000;250(6):274-285.
 52. Pearlson GD, Folley BS. Schizophrenia, psychiatric genetics, and Darwinian psychiatry: an evolutionary framework. *Schizophr Bull*. 2008;34:722–733.
 53. Gottesman, I. I. (1991) *Schizophrenia Genesis: The Origin of Madness*. New York: Freeman.
 54. Cannon M, Jones PB, Murray RM. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*. 2002;159:1080–1092.
 55. Howes OD, McDonald C, Cannon M, Arseneault L, Boydell J, Murray RM. Pathways to schizophrenia: the impact of environmental factors. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2004;7((Supplement 1)):S7-S13.
 56. Johnstone EC, Crow TJ, Frith CD, Husband J, Kreel L. Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet*. 1976;2:924–926.
 57. Honey GD, Fletcher PC, Bullmore ET. Functional brain mapping of psychopathology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;72:432–439.
 58. Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, et al.. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*. 1996;93(17):9235–40.
 59. Barch DM, Csernansky JG. Abnormal parietal cortex activation during working memory in schizophrenia: verbal phonological coding disturbances versus domain-general executive dysfunction. *Am J Psychiatry*. 2007;164:1090–1098.
 60. Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*. 1957 Nov 30; 180(4596):1200.
 61. Lieberman JA, Kane JM, Alvir J. Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987;91(4):415-33.

-
62. Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res*. 2004 Aug;24(3):165-205. Review.
 63. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*. 1991 Nov;148(11):1474-86. Review.
 64. Scatton B, Worms P, Lloyd KG, Bartholini G. Cortical modulation of striatal function. *Brain Res*. 1982 Jan 28;232(2):331-43.
 65. Weinberger DR, McClure RK. Neurotoxicity, neuroplasticity, and magnetic resonance imaging morphometry: what is happening in the schizophrenic brain? *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59:553–558.
 66. Galińska B, Szulc A, Tarasów E, Kubas B, Dzienis W, Siergiejczyk L, Czernikiewicz A, Walecki J. Relationship between frontal N-acetylaspartate and cognitive deficits in first-episode schizophrenia. *Med Sci Monit*. 2007 May;13 Suppl 1:11-6.
 67. Gabriele Ende, Dr. rer. Nat., Dieter F. Braus, M.D., Sigrid Walter, Dipl. Phys., and Fritz A. Henn, M.D., Ph.D. Lower Concentration of Thalamic *N*-Acetylaspartate in Patients With Schizophrenia: A Replication Study. *Am J Psychiatry* August 2001; 158:1314-1316.
 68. Zhang ZJ, Peet M, Ramchand CN, Shah S, Reynolds GP. Plasma homovanillic acid in untreated schizophrenia--relationship with symptomatology and sex. *J Psychiatr Res*. 2001 Jan-Feb;35(1):23-8.
 69. Kahn RS, Harvey PD, Davison M, Keefe RSE, Apter SH, Neale JM, Mohs RC, Davis KL. Neuropsychological correlates of central monoamine function in chronic schizophrenia: relationship between CSF metabolites and cognitive function. *Schizophr Res*. 1994;11:217–224.
 70. Carpenter WT Jr. Serotonin-dopamine antagonists and treatment of negative symptoms. *J Clin Psychopharmacol*. 1995 Feb;15(1 Suppl 1):30S-35S. Review.
 71. Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science*. 1991 Feb 22;251(4996):947-50.
 72. Luciana M., Depue R. A., Arbisi P., Leon A. (1992). Facilitation of working memory in humans by a D2 dopamine receptor agonist. *J. Cogn. Neurosci*. 4, 58–68.

-
73. Seeman P, Kapur S. Schizophrenia: More dopamine, more D₂ receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 July 5; 97(14): 7673–7675.
 74. Bowers MB, Swigar ME, Jatlow PI, Hoffman FJ, Goicoechea N. Early neuroleptic response: clinical profiles and plasma catecholamine metabolites. *J Clin Psychopharmacol*. 1987;7:83–86.
 75. Davila R, Manero E, Zumarraga M, Andia I, Schweitzer JW, Friedhoff AJ. Plasma homovanillic acid as a predictor of response to neuroleptics. *Arch Gen Psychiatry*. 1988 Jun;45(6):564-7.
 76. Moore RY, Whone AL, McGowan S, Brooks DJ. Monoamine neuron innervation of the normal human brain: an 18F-DOPA PET study. *Brain Res*. 2003 Aug 29;982(2):137-45.
 77. Meyer-Lindenberg A, Miletich RS, Kohn PD, et al. Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. *Nat Neurosc*. 2002;5: 267-271.
 78. McGowan S, Lawrence AD, Sales T, Queded D, Grasby P. Presynaptic dopaminergic dysfunction in schizophrenia: a positron emission tomographic [18F]fluorodopa study. *Arch Gen Psychiatry*. 2004 Feb;61(2):134-42.
 79. Hietala J, Syvälahti E, Vuorio K, Rääköläinen V, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, Kuoppamäki M, Kirvelä O, Ruotsalainen U, et al. Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naïve schizophrenic patients. *Lancet*. 1995 Oct 28;346(8983):1130-1.
 80. Hietala J, Syvälahti E, Vilkman H, Vuorio K, Rääköläinen V, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, Kuoppamäki M, Eronen E, Ruotsalainen U, Salokangas RK. Depressive symptoms and presynaptic dopamine function in neuroleptic-naïve schizophrenia. *Schizophr Res*. 1999 Jan 4;35(1):41-50.
 81. Howes OD, Montgomery AJ, Asselin MC, Murray RM, Valli I, Tabraham P, Bramon-Bosch E, Valmaggia L, Johns L, Broome M, McGuire PK, Grasby PM. Elevated striatal dopamine function linked to prodromal signs of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2009 Jan;66(1):13-20.
 82. Lindström LH, Gefvert O, Hagberg G, Lundberg T, Bergström M, Hartvig P, Långström B. Increased dopamine synthesis rate in medial prefrontal cortex and striatum in schizophrenia indicated by L-(beta-11C) DOPA and PET. *Biol Psychiatry*. 1999 Sep 1;46(5):681-8.

-
83. Reith J, Benkelfat C, Sherwin A, Yasuhara Y, Kuwabara H, Andermann F, Bachneff S, Cumming P, Diksic M, Dyve SE, Etienne P, Evans AC, Lal S, Shevell M, Savard G, Wong DF, Chouinard G, Gjedde A. Elevated dopa decarboxylase activity in living brain of patients with psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Nov 22;91(24):11651-4.
 84. Laruelle M, Iyer RN, al-Tikriti MS, Zea-Ponce Y, Malison R, Zoghbi SS, Baldwin RM, Kung HF, Charney DS, Hoffer PB, Innis RB, Bradberry CW. Microdialysis and SPECT measurements of amphetamine-induced dopamine release in nonhuman primates. *Synapse*. 1997 Jan;25(1):1-14.
 85. Laruelle M. Imaging synaptic neurotransmission with in vivo binding competition techniques: a critical review. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000 Mar;20(3):423-51. Review.
 86. Abi-Dargham A, Gil R, Krystal J, Baldwin RM, Seibyl JP, Bowers M, van Dyck CH, Charney DS, Innis RB, Laruelle M. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry*. 1998 Jun;155(6):761-7.
 87. Laruelle M, Abi-Dargham A. Dopamine as the wind of the psychotic fire: new evidence from brain imaging studies. *J Psychopharmacol*. 1999 Dec;13(4):358-71. Review.
 88. Abi-Dargham A, Rodenhiser J, Printz D, Zea-Ponce Y, Gil R, Kegeles LS, Weiss R, Cooper TB, Mann JJ, Van Heertum RL, Gorman JM, Laruelle M. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Jul 5;97(14):8104-9.
 89. Abi-Dargham A. Recent evidence for dopamine abnormalities in schizophrenia. *European Psychiatry* 2002; 17, 341-347.
 90. Cohen JD, Forman SD, Braver TS, Casey BJ, Servan-Schreiber D, Noll DC. Activation of the prefrontal cortex in a nonspatial working memory task with functional MRI. *Human Brain Mapping*. 1994; 1:293-304.
 91. Abi-Dargham A, Mawlawi O, Lombardo I, Gil R, Martinez D, Huang Y, Hwang DR, Keilp J, Kochan L, Van Heertum R, Gorman JM, Laruelle M. Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. *J Neurosci*. 2002 May 1;22(9):3708-19.

-
92. Kegeles LS, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Rodenhiser-Hill J, Mann JJ, Van Heertum RL, Cooper TB, Carlsson A, Laruelle M. Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2000 Oct 1;48(7):627-40.
 93. Goldman-Rakic PS, Mully III EC, William GV. D1 receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Research Reviews*. 2000 31, 295-301.
 94. Pycock CJ, Kerwin RW, Carter CJ. Effect of lesion of cortical dopamine terminals on subcortical dopamine receptors in rats. *Nature*. 1980 Jul 3;286(5768):74-6.
 95. Gordon JA. Testing the glutamate hypothesis of schizophrenia. *Nat Neurosci*. 2010 Jan;13(1):2-4.
 96. Allen NC, Bagade S, McQueen MB, Ioannidis JP, Kavvoura FK, Khoury MJ, Tanzi RE, Bertram L. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet*. 2008 Jul;40(7):827-34.
 97. Talkowski ME, Kirov G, Bamne M, Georgieva L, Torres G, Mansour H, Chowdari KV, Milanova V, Wood J, McClain L, Prasad K, Shirts B, Zhang J, O'Donovan MC, Owen MJ, Devlin B, Nimgaonkar VL. A network of dopaminergic gene variations implicated as risk factors for schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 2008 Mar 1;17(5):747-58. Epub 2007 Nov 27.
 98. O'Donovan MC, Williams NM, Owen MJ. Recent advances in the genetics of schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 2003 Oct 15;12 Spec No 2:R125-33.
 99. Stefansson, H., Sigurdson, E., Steinhorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., Ghosh, S., Brynjolfsson, J., Gunnardsdottir, S., Ivarsson, O., Chou, T. T., Hjaltson, O., Birgisdottir, B., Jonsson, H., Gudnadottir, V. G., Gudmundsdottir, E., Bjornsson, A., Ingvarsson, B., & Ingason, A. (2002). Neuregulin-1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 71, 877–892.
 100. Walsh, D. et al. (1995) A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6P24–22—evidence for genetic-heterogeneity. *Nat. Genet.*, 11, 287–293.
 101. Straub, R. E., Jiang, Y., Maclean, C. J., Ma, Y., Webb, B. T., Myakishev, M. V., Harris-Kerr, C., Wormley, B., Sadek, H., Kadambi, B., Cesare, A. J.,

-
- Gibberman, A., Wang, X., O'Neill, F. A., Walsh, D., & Kendler, K. S. (2002). Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 71(2), 337–348.
102. Owen, M. J., Williams, N. M., & O'Donovan, M. C. (2004b). Dysbindin-1 and schizophrenia: From genetics to neuropathy. *J Clin Invest*, 113, 1255–1257.
103. Talbot, K., Eidem, W. L., Tinsley, C. L., Benson, M. A., Thompson, E. W., Smith, R. J., Hahn, C-G., Siegel, S. J., Trojanowski, J. Q., Gur, R. E., Blake, D. J., & Arnold, S. E. (2004). Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. *J Clin Invest*, 113, 1353–1363.
104. Chowdari, K. V., Mirnics, K., Semwal, P., Wood, J., Lawrence, E., Bhatia, T., Deshpande, S. N., Ferrell, R. E., Middleton, F. A., Devlin, B., Levitt, P., Lewis, D. A., & Nimgaonkar, V. L. (2002). Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 11(12), 1373–1380.
105. Ni, Y. G., Gold, S. J., Iredale, P. A., Terwilliger, R. Z., Duman, R. S., & Nestler, E. J. (1999). Region specific regulation of RGS4 (Regulator of G-protein-signalling protein type 4) in brain by stress and glucocorticoids: In vivo and in vitro studies. *J Neurosci*, 19(10), 3674–3680.
106. Chumakov, I., Blumenfeld, M., Guerassimenko, O., Cavarec, L., Palicio, M., Abderrahim, H., Bougueleret, L., Barry, C., Tanaka, H., La Rosa, P., Puech, A., Tahri, N., Cohen-Akenine, A., Delabrosse, S., Lissarrague, S., Picard, F. P., Maurice, K., Essioux, L., Millasseau, P., and Grel, P. (2002). Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci*, 99(21), 13675–13680.
107. Harrison, P. J., & Owen, M. J. (2003). Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *The Lancet*, 361, 417–419.
108. Owen, M. J., Williams, N. M., & O'Donovan, M. C. (2004a). The molecular genetics of schizophrenia: New findings promise new insights. *Mol Psychiatry*, 9(1), 14–27.

-
109. Araninda Chakravarti. A compelling genetic hypothesis for a complex disease: PRODH2/DGCR6 variation leads to schizophrenia susceptibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002 99 (8) 4755-4756
 110. Bassett AS, Chow EW, AbdelMalik P, Gheorghiu M, Husted J, Weksberg R. The schizophrenia phenotype in 22q11 deletion syndrome. *Am J Psychiatry*. 2003 Sep;160(9):1580-6.
 111. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Jun 5;98(12):6917-22.
 112. Cantor-Graae E, Selten JP. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry*. 2005;162:12–24.
 113. Cantor-Graae E. The contribution of social factors to the development of schizophrenia: a review of recent findings. *Can J Psychiatry*. 2007 May;52(5):277-86. Review.
 114. Van WR, Stefanis NC, Myin-Germeys I. Psychosocial stress and psychosis. A review of the neurobiological mechanisms and the evidence for gene-stress interaction. *Schizophr Bull*. 2008.
 115. Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Inglis W, Kendall DA, Marsden CA, Robbins TW. Isolation rearing in rats: pre- and postsynaptic changes in striatal dopaminergic systems. *Pharmacol Biochem Behav*. 1998
 116. Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW. Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*. 1999 Apr;32(1):37-43.
 117. Cannon M, Jones PB, Murray RM. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*. 2002 Jul;159(7):1080-92.
 118. Boksa P, El-Khodor BF. Birth insult interacts with stress at adulthood to alter dopaminergic function in animal models: possible implications for schizophrenia and other disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003 Jan-Mar;27(1-2):91-101. Review.
 119. Fortier ME, Joobor R, Luheshi GN, Boksa P. Maternal exposure to bacterial endotoxin during pregnancy enhances amphetamine-induced locomotion and

-
- startle responses in adult rat offspring. *J Psychiatr Res.* 2004 May-Jun;38(3):335-45.
120. Diaz R, Ogren SO, Blum M, Fuxe K. Prenatal corticosterone increases spontaneous and d-amphetamine induced locomotor activity and brain dopamine metabolism in prepubertal male and female rats. *Neuroscience.* 1995 May;66(2):467-73.
121. Kehoe P, Shoemaker WJ, Triano L, Hoffman J, Arons C. Repeated isolation in the neonatal rat produces alterations in behavior and ventral striatal dopamine release in the juvenile after amphetamine challenge. *Behav Neurosci.* 1996 Dec;110(6):1435-44.
122. Yui K, Ikemoto S, Ishiguro T, Goto K. Studies of amphetamine or methamphetamine psychosis in Japan: relation of methamphetamine psychosis to schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci.* 2000 Sep;914:1-12. Review.
123. Boileau I, Dagher A, Leyton M, Gunn RN, Baker GB, Diksic M, Benkelfat C. Modeling sensitization to stimulants in humans: an [¹¹C]raclopride/positron emission tomography study in healthy men. *Arch Gen Psychiatry.* 2006 Dec;63(12):1386-95.
124. Moore TH, Zammit S, Lingford-Hughes A, Barnes TR, Jones PB, Burke M, Lewis G. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet.* 2007 Jul 28;370(9584):319-28. Review.
125. Freud TF, Katona I, Piomelli D. role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev.* 2003;83:1017-1066.
126. Cheer JF, Wassum KM, Heien ML, Phillips PE, Wightman RM. Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci.* 2004 May 5;24(18):4393-400.
127. Kessler RC, Birnbaum H, Demler O, Falloon IR, Gagnon E, Guyer M, Howes MJ, Kendler KS, Shi L, Walters E, Wu EQ. The prevalence and correlates of nonaffective psychosis in the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *Biol Psychiatry.* 2005 Oct 15;58(8):668-76.
128. Dutta R, Greene T, Addington J, McKenzie K, Phillips M, Murray RM. Biological, life course and cross-cultural studies all point toward the value of

-
- dimensional and developmental ratings in the classification of psychosis. *Schizophr Bull*(2007)33:868-876.
129. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull*. 2009 May;35(3):549-62. Epub 2009 Mar 26.
130. Abi-Dargham A, Kegeles LS, Zea-Ponce Y, Mawlawi O, Martinez D, Mitropoulou V, O'Flynn K, Koenigsberg HW, Van Heertum R, Cooper T, Laruelle M, Siever LJ. Striatal amphetamine-induced dopamine release in patients with schizotypal personality disorder studied with single photon emission computed tomography and [¹²³I]iodobenzamide. *Biol Psychiatry*. 2004 May 15;55(10):1001-6.
131. Yatham LN, Liddle PF, Shiah IS, Lam RW, Ngan E, Scarrow G, Imperial M, Stoessl J, Sossi V, Ruth TJ. PET study of [(18)F]6-fluoro-L-dopa uptake in neuroleptic-and mood-stabilizer-naive first-episode nonpsychotic mania: effects of treatment with divalproex sodium. *Am J Psychiatry*. 2002 May;159(5):768-74.
132. Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003 Jan;160(1):13-23. Review.
133. Kapur S, Mizrahi R, Li M. From dopamine to salience to psychosis-linking biology, pharmacology and phenomenology of psychosis. *Schizophr Res*. 2005 Nov 1;79(1):59-68. Review.
134. Jablensky A, Sartorius N, Ernberg G, Anker M, Korten A, et al. Schizophrenia: Manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychol Med Monogr Suppl*. 1992;20:1-97.
135. Seamans JK, Yang CR. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol*. 2004 Sep;74(1):1-58.
136. Juckel G, Schlagenhauf F, Koslowski M, Wüstenberg T, Villringer A, Knutson B, Wrase J, Heinz A. Dysfunction of ventral striatal reward prediction in schizophrenia. *Neuroimage*. 2006 Jan 15;29(2):409-16.
137. Vernaleken I, Kumakura Y, Cumming P, Buchholz HG, Siessmeier T, Stoeter P, Müller MJ, Bartenstein P, Gründer G. Modulation of [¹⁸F]fluorodopa

-
- (FDOPA) kinetics in the brain of healthy volunteers after acute haloperidol challenge. *Neuroimage*. 2006 May 1;30(4):1332-9.
138. Gründer G, Vernaleken I, Müller MJ, Davids E, Heydari N, Buchholz HG, Bartenstein P, Munk OL, Stoeter P, Wong DF, Gjedde A, Cumming P. Subchronic haloperidol downregulates dopamine synthesis capacity in the brain of schizophrenic patients in vivo. *Neuropsychopharmacology*. 2003 Apr;28(4):787-94.
139. Axelrod J, Tomchick R. Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J Biol Chem*. 1958 Sep;233(3):702-5.
140. Männistö PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev*. 1999 Dec;51(4):593-628. Review.
141. Grossman MH, Emanuel BS, Budarf ML. Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1----q11.2. *Genomics*. 1992 Apr;12(4):822-5.
142. Tenhunen J, Salminen M, Lundström K, Kiviluoto T, Savolainen R, Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem*. 1994 Aug 1;223(3):1049-59.
143. Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, Kolachana BS, Hyde TM, Herman MM, Apud J, Egan MF, Kleinman JE, Weinberger DR. 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*. 2004 Nov;75(5):807-21.
144. Bertocci B, Miggiano V, Da Prada M, Dembic Z, Lahm HW, Malherbe P. Human catechol-O-methyltransferase: cloning and expression of the membrane-associated form. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Feb 15;88(4):1416-20.
145. Roth JA(1992):Membrane-bound catechol-o-methyltransferase: A reevaluation of its role in the o-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Rev. Physiol.Biochem.Pharmacol*.120:1-29.

-
146. Williams HJ, Owen MJ, O'Donovan MC. Is COMT a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophr Bull.* 2007 May;33(3):635-41.
 147. Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR. Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biological Psychiatry.* 2006;60(2):141–151.
 148. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:818–827.
 149. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics.* 1996 Jun;6(3):243-50.
 150. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melén K, Julkunen I, Taskinen J. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry.* 1995 Apr 4;34(13):4202-10.
 151. Palmatier MA, Kang AM, Kidd KK. Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biol Psychiatry.* 1999 Aug 15;46(4):557-67.
 152. Lavigne JA, Helzlsouer KJ, Huang HY, Strickland PT, Bell DA, Selmin O, Watson MA, Hoffman S, Comstock GW, Yager JD. An association between the allele coding for a low activity variant of catechol-O-methyltransferase and the risk for breast cancer. *Cancer Res.* 1997 Dec 15;57(24):5493-7.
 153. Kopin IJ. Catecholamine metabolism: basic aspects and clinical significance. *Pharmacol Rev.* 1985 Dec;37(4):333-64. Review.
 154. Miner LH, Schroeter S, Blakely RD, Sesack SR. Ultrastructural localization of the norepinephrine transporter in superficial and deep layers of the rat prelimbic prefrontal cortex and its spatial relationship to probable dopamine terminals. *J Comp Neurol.* 2003 Nov 24;466(4):478-94.
 155. Karoum F, Chrapusta SJ, Egan MF. 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.* 1994 Sep;63(3):972-9.

-
156. Tunbridge EM, Bannetman DM, Sharp T, Harrison PJ (2004a) : Catechol-o-methyltransferase inhibition improves set-shifting performance and elevates stimulated dopamine release in the rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 24:5331-5335.
 157. Carr DB, Sesack SR. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci*. 2000 May 15;20(10):3864-73.
 158. Akil M, Kolachana BS, Rothmond DA, Hyde TH, Weinberger DR, Kleinman JE. Catechol-o-methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. *J Neurosci*. 2003;23:2008-2013.
 159. Meyer-Lindenberg A, Kohn PD, Kolachana B, Kippenhan S, McInerney-Leo A, Nussbaum R, Weinberger DR, Berman KF. Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: interaction and modulation by COMT genotype. *Nat Neurosci*. 2005 May;8(5):594-6.
 160. Goldman-Rakic PS, Muly EC 3rd, Williams GV. D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Brain Res Rev*. 2000 Mar;31(2-3):295-301. Review.
 161. Seamans JK, Yang CR. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol*. 2004 Sep;74(1):1-58. Review.
 162. Williams GV, Goldman-Rakic PS. Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature*. 1995 Aug 17;376(6541):572-5.
 163. Winterer G, Weinberger DR. Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia. *Trends Neurosci*. 2004 Nov;27(11):683-90. Review.
 164. Goldberg TE, Egan MF, Gscheidle T, Coppola R, Weickert T, Kolachana BS, Goldman D, Weinberger DR. Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Sep;60(9):889-96.
 165. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 2006;7:818–827.

-
166. de Frias, C. M., Annerbrink, K., Westberg, L., Eriksson, E., Adolfsson, R., and Nilsson, L. G. (2004). COMT gene polymorphism is associated with declarative memory in adulthood and old age. *Behav. Genet.* 34, 533–539.
167. de Frias, C. M., Annerbrink, K., Westberg, L., Eriksson, E., Adolfsson, R., and Nilsson, L. G. (2005). Catechol O-methyltransferase Val158Met polymorphism is associated with cognitive performance in nondemented adults. *J. Cogn. Neurosci.* 17, 1018–1025.
168. Sambataro F, Kingshott E, Das S, et al. Effect of catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on information processing in the prefrontal cortex during working memory in the elderly. Presented at the 44th annual meeting of the American College of Neuropsychopharmacology, Waikoloa, Hawaii, December 11–15, 2005.
169. Bilder RM, Volavka J, Lachman HM, Grace AA. The catechol-O-methyltransferase polymorphism: relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Nov;29(11):1943-61. Review.
170. Foltynie T, Goldberg TE, Lewis SG, Blackwell AD, Kolachana BS, Weinberger DR, Robbins TW, Barker RA. Planning ability in Parkinson's disease is influenced by the COMT val158met polymorphism. *Mov Disord*. 2004 Aug;19(8):885-91.
171. Williams-Gray CH, Hampshire A, Barker RA, Owen AM. Attentional control in Parkinson's disease is dependent on COMT val 158 met genotype. *Brain*. 2008 Feb;131(Pt 2):397-408.
172. Williams-Gray CH, Hampshire A, Robbins TW, Owen AM, Barker RA (2007). Catechol O-methyltransferase Val158Met genotype influences frontoparietal activity during planning in patients with Parkinson's disease. *J Neurosci* 27: 4832–4838.
173. Mattay,VS, Golberg,TE, Fera,F, et al. Catechol O-methyltransferase val¹⁵⁸-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 May 13; 100(10): 6186–6191.
174. Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, Koeppe RA, Stohler CS, Goldman D. COMT val158met genotype affects mu-opioid

-
- neurotransmitter responses to a pain stressor. *Science*. 2003 Feb 21;299(5610):1240-3.
175. Karayiorgou M, Altemus M, Galke BL, Goldman D, Murphy DL, Ott J, Gogos JA. Genotype determining low catechol-O-methyltransferase activity as a risk factor for obsessive-compulsive disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Apr 29;94(9):4572-5.
176. Enoch MA, Xu K, Ferro E, Harris CR, Goldman D. Genetic origins of anxiety in women: a role for a functional catechol-O-methyltransferase polymorphism. *Psychiatr Genet*. 2003 Mar;13(1):33-41.
177. Woo JM, Yoon KS, Choi YH, Oh KS, Lee YS, Yu BH. The association between panic disorder and the L/L genotype of catechol-O-methyltransferase. *J Psychiatr Res*. 2004 Jul-Aug;38(4):365-70.
178. Grace AA. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*. 1991;41(1):1-24. Review.
179. Grace AA (1993). Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *J Neural Transm Gen Sect* 91: 111–134.
180. Moore H, West AR, Grace AA (1999). The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia [Review] *Biol Psychiatry* 46: 40–55. |
181. 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.
182. Gogos JA, Morgan M, Luine V, Santha M, Ogawa S, Pfaff D et al (1998). Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 9991–9996.
183. Floresco SB, West AR, Grace AA (2004). Reply to 'extrasynaptic dopamine and phasic neuronal activity'. *Nat Neurosci* 7: 199.
184. 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. |

-
185. 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.
 186. Yamamoto BK, Novotney S (1998). Regulation of extracellular dopamine by the norepinephrine transporter. *J Neurochem* 71: 274–280.
 187. 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.
 188. Gorelova N, Seamans JK, Yang CR (2002). Mechanisms of dopamine activation of fast-spiking interneurons that exert inhibition in rat prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 88: 3150–3166.
 189. Lewis BL, O'Donnell P (2000). Ventral tegmental area afferents to the prefrontal cortex maintain membrane potential 'up' states in pyramidal neurons via D(1) dopamine receptors. *Cereb Cortex* 10: 1168–1175.
 190. Durstewitz D, Seamans JK, Sejnowski TJ (2000b). Neurocomputational models of working memory [Review], *Nat Neurosci* 3(Suppl): 1184–1191.
 191. Durstewitz D, Seamans JK (2002). The computational role of dopamine D1 receptors in working memory. *Neural Networks* 15: 572.
 192. Cohen JD, Braver TS, Brown JW (2002). Computational perspectives on dopamine function in prefrontal cortex [Review]. *Curr Opin Neurobiol* 12: 223–229.
 193. Fuster JM (1999). Synopsis of function and dysfunction of the frontal lobe. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 395: 51–57.
 194. Petrides M, Alivisatos B, Frey S (2002). Differential activation of the human orbital, mid-ventrolateral, and mid-dorsolateral prefrontal cortex during the processing of visual stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 5649–5654.
 195. Cohen JD, Braver TS, Brown JW (2002). Computational perspectives on dopamine function in prefrontal cortex [Review] [76 refs]. *Curr Opin Neurobiol* 12: 223–229.

-
196. Grossberg S (1999). Neural models of normal and abnormal behavior: what do schizophrenia, parkinsonism, attention deficit disorder, and depression have in common? *Prog Brain Res* 121: 375–406.
 197. Bilder RM, Volavka J, Czobor P, Malhotra AK, Kennedy JL, Ni X *et al* (2002). Neurocognitive correlates of the COMT Val(158)Met polymorphism in chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* 52: 701–707.
 198. Nolan KA, Bilder RM, Lachman HM, Volavka J (2004). Catechol *O*-methyltransferase val(158)met polymorphism in schizophrenia: differential effects of val and met alleles on cognitive stability and flexibility. *Am J Psychiatry* 161: 359–361.
 199. Diamond A, Briand L, Fossella J, Gehlbach L (2004). Genetic and neurochemical modulation of prefrontal cognitive functions in children. *Am J Psychiatry* 161: 125–132.
 200. Gasparini M, Fabrizio E, Bonifati V, Meco G. Cognitive improvement during Tolcapone treatment in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 1997;104(8-9):887-94.
 201. Badner JA, Gershon ES (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7: 405–411.
 202. Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Lipska BK *et al* (2001). Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 50: 825–844.
 203. 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: 469–476.
 204. 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.
 205. Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Terao T, Suzuki T, Mita T *et al* (1998). Association study of a functional catechol-*O*-methyltransferase gene polymorphism in Japanese schizophrenics. *Neurosci Lett* 243: 109–112.
 206. Strous RD, Bark N, Parsia SS, Volavka J, Lachman HM (1997). Analysis of a functional catechol-*O*-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia:

-
- evidence for association with aggressive and antisocial behavior. *Psychiatry Res* 69: 71–77.
207. Li T, Sham PC, Vallada H, Xie T, Tang X, Murray RM et al (1996). Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. *Psychiatric Genet* 6: 131–133.
208. Herken H, Erdal ME (2001). Catechol-*O*-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia: evidence for association between symptomatology and prognosis. *Psychiatric Genet* 11: 105–109.
209. Illi A, Kampman O, Anttila S, Roivas M, Mattila KM, Lehtimäki T et al (2003a). Interaction between angiotensin-converting enzyme and catechol-*O*-methyltransferase genotypes in schizophrenics with poor response to conventional neuroleptics. *Eur Neuropsychopharmacol* 13: 147–151.
210. Illi A, Mattila KM, Kampman O, Anttila S, Roivas M, Lehtimäki T et al (2003b). Catechol-*O*-methyltransferase and monoamine oxidase A genotypes and drug response to conventional neuroleptics in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 23: 429–434.
211. Lencz T, Cornblatt B, Bilder RM (2001b). Neurodevelopmental models of schizophrenia: pathophysiologic synthesis and directions for intervention research. *Psychopharmacol Bull* 35: 95–125.
212. Stahl SM (2001a). Dopamine system stabilizers, aripiprazole, and the next generation of antipsychotics, part 1, 'Goldilocks' actions at dopamine receptors. *J Clin Psychiatry* 62: 841–842.
213. Cahill L (2006). Why sex matters for neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 7: 477–484.
214. De Vries GJ (2004). Sex differences in adult and developing brain: compensation, compensation, compensation. *Endocrinology* 145: 1063–1068.
215. Aleman A, Kahn RS, Selten JP. Sex differences in the risk of schizophrenia—evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* (2003);60: 565–571.
216. Piccinelli M, Wilkinson G. Gender differences in depression—critical review. *Br J Psychiatry* (2000);177: 486–492.
217. Tamminga CA. Gender and schizophrenia. *J Clin Psychiatry* (1997);58 (Suppl15): 33–37.

-
218. Kelly SJ, Ostrowski NL, Wilson MA. Gender differences in brain and behavior: hormonal and neural bases. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 64: 655–664.
 219. Seeman M. Psychopathology in women and men: focus on female hormones. *Am J Psychiatry* (1997) ; 154: 1641–1647.
 220. Cutter WJ, Daly EM, Robertson DMW, Chitnis XA, Van Amelsvoort TAMJ, Simmons A et al. Influence of X chromosome and hormones on human brain development: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study of Turner syndrome. *Biol Psychiatry* 2006 ; 59: 273–283.
 221. Holmans P, Zubenko G, Crowe R, DePaulo Jr JR, Scheftner W, Weissman M et al. Genomewide significant linkage to recurrent, early-onset major depressive disorder on chromosome 15q. *Am J Hum Genet* 2004 ; 74: 1154–1167.
 222. Nestadt G, Lan T, Samuels J, Riddle M, Bienvenu III OJ, Liang KY et al. Complex segregation analysis provides compelling evidence for a major gene underlying obsessive-compulsive disorder and for heterogeneity by sex. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67: 1611–1616.
 223. Stone JL, Merriman B, Cantor RM, Yonan AL, Gilliam TC, Geschwind DH et al. Evidence for sex-specific risk alleles in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2004 ; 75: 1117–1123.
 224. Kendler KS, Gatz M, Gardner CO, Pedersen NL. A Swedish national twin study of lifetime major depression. *Am J Psychiatry* 2006 ; 163: 109–114.
 225. Tunbridge E, Burnet PWJ, Sodhi MS, Harrison PJ (2004b). Catechol-*O*-methyltransferase (COMT) and proline dehydrogenase (PRODH) mRNAs in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *Synapse* 51: 112–118.
 226. Dempster EL, Mill J, Craig IW, Collier DA. The quantification of *COMT* mRNA in *post mortem* cerebellum tissue: diagnosis, genotype, methylation and expression. *BMC Medical Genetics* 2006 ; 7: 10.
 227. Gogos JA, Morgan M, Luine V, Santha M, Ogawa S, Pfaff D et al. Catechol-*O*-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95: 9991–9996.

-
228. Cohn CK, Axelrod J. The effect of estradiol on catechol-*O*-methyltransferase activity in rat liver. *Life Sci.* 1971;10: 1351–1354.
229. Xie T, Ho SL, Ramsden D. Characterization and implications of estrogenic down-regulation of human catechol-*O*-methyltransferase gene transcription. *Mol Pharmacol.* 1999; 56: 31–38.
230. Briggs MH, Briggs M. Hormonal influences on erythrocyte catechol-*O*-methyltransferase activity in humans. *Experientia* 1973 ; 29: 278–280.
231. Creveling CR. The role of catechol-*O*-methyltransferase in the inactivation of catecholestrogen. *Cell Mol Neurobiol.* 2003; 23: 289–291.
232. Dawling S, Roodi N, Mernaugh RL, Wang X, Parl FF (2001). Catechol-*O*-methyltransferase (COMT)-mediated metabolism of catechol estrogens: comparison of wild-type and variant COMT isoforms. *Cancer Res* 61: 6716–6722.
233. Goodman JE, Jensen LT, He P, Yager JD (2002). Characterization of human soluble high and low activity catechol-*O*-methyltransferase catalyzed catechol estrogen methylation. *Pharmacogenetics* 12: 517–528.
234. Jiang H, Xie T, Ramsden DB, Ho SL (2003). Human catechol-*O*-methyltransferase down-regulation by estradiol. *Neuropharmacology* 45: 1011–1018.
235. Tunbridge EM, Weickert CS, Kleinman JE, Herman MM, Chen J, Kolachana BS *et al* (2007a). Catechol-*O*-methyltransferase enzyme activity and protein expression in human prefrontal cortex across the postnatal lifespan. *Cereb Cortex* 17: 1206–1212.
236. Bjornerem A, Straume B, Midtby M, Fonnebo V, Sundsfjord J, Svartberg J *et al* (2004). Endogenous sex hormones in relation to age, sex, lifestyle factors, and chronic diseases in a general population: the Tromso Study. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 6039–6047.
237. Laakso A, Vilkmann H, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, Syvalahti E *et al* (2002). Sex differences in striatal presynaptic dopamine synthesis capacity in healthy subjects. *Biol Psychiatry* 52: 759–763.
238. Munro CA, McCaul ME, Wong DF, Oswald LM, Zhou Y, Brasic J *et al* (2006). Sex differences in striatal dopamine release in healthy adults. *Biol Psychiatry* 59: 966–974.

-
239. Mozley LH, Gur RC, Mozley PD, Gur RE (2001). Striatal dopamine transporters and cognitive functioning in healthy men and women. *Am J Psychiatry* 158: 1492–1499.
 240. Xiao L, Becker JB (1994). Quantitative microdialysis determination of extracellular striatal dopamine concentration in male and female rats: effects of estrous cycle and gonadectomy. *Neurosci Lett* 180: 155–158.
 241. Cosgrove KP, Mazure CM, Staley JK (2007). Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function, and chemistry. *Biol Psychiatry*.
 242. Maynard TM, Haskell GT, Lieberman JA, LaMantia AS. 22q11 DS: genomic mechanisms and gene function in DiGeorge/velocardiofacial syndrome. *Int J Dev Neurosci*. 2002 Jun-Aug;20(3-5):407-19.
 243. DiGeorge AM. Congenital absence of the thymus and its immunologic consequences: concurrence with congenital hypoparathyroidism. *Birth Defects*. 1968;4(1):116–121.
 244. Shprintzen RJ, Goldberg RB, Lewin ML, Sidoti EJ, Berkman MD, Argamaso RV, et al. A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies, and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. *The Cleft Palate Journal*. 1978;15(1):56–62.
 245. Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome: 30 Years of study. *Developmental Disabilities Research Reviews*. 2008;14(1):3–10.
 246. Robin NH, Shprintzen RJ. Defining the clinical spectrum of deletion 22q11.2. *J Pediatr*. 2005;147(1):90–96.
 247. Shprintzen RJ, Siegel-Sadewitz VL, Amato J, Goldberg RB. Anomalies associated with cleft lip, cleft palate, or both. *American Journal of Medical Genetics*. 1985;20(4):585–595.
 248. Goldmuntz E, Clark BJ, Mitchell LE, Jawad AF, Cuneo BF, Reed L, et al. Frequency of 22q11 deletions in patients with conotruncal defects. *Journal of the American College of Cardiology*. 1998;32(2):492–498.
 249. Simon TJ, Bearden CE, Mc-Ginn DM, Zackai E. Visuospatial and numerical cognitive deficits in children with chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Cortex*. 2005;41(2):145–155.

-
250. Baker KD, Skuse DH. Adolescents and young adults with 22q11 deletion syndrome: psychopathology in an at-risk group. *The British journal of Psychiatry*. 2005;186:115–120.
251. Woodin M, Wang PP, Aleman D, McDonald-McGinn D, Zackai E, Moss E. Neuropsychological profile of children and adolescents with the 22q11.2 microdeletion. *Genetics in Medicine*. 2001;3(1):34–39.
252. Murphy KC, Jones LA, Owen MJ. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry*. 1999 Oct;56(10):940-5.
253. Pulver AE, Nestadt G, Goldberg R, Shprintzen RJ, Lamacz M, Wolyniec PS, Morrow B, Karayiorgou M, Antonarakis SE, Housman D, et al. Psychotic illness in patients diagnosed with velo-cardio-facial syndrome and their relatives. *J Nerv Ment Dis*. 1994 Aug;182(8):476-8.
254. Bassett AS, Chow EW. 22q11 deletion syndrome: a genetic subtype of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1999 Oct 1;46(7):882-91.
255. Gothelf D, Eliez S, Thompson T, Hinard C, Penniman L, Feinstein C, Kwon H, Jin S, Jo B, Antonarakis SE, Morris MA, Reiss AL. COMT genotype predicts longitudinal cognitive decline and psychosis in 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Neurosci*. 2005 Nov;8(11):1500-2.
256. Bearden CE, Jaward AF, Lynch DR, Sokol S, Kanes SJ, McDonald-McGinn DM, et al (2004): Effects of a functional COMT polymorphism on prefrontal cognitive function in patients with 22q11 deletion syndrome. *Am J psychiatry* 161:1700-2.
257. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2006 Oct;7(10):818-27.
258. EM Tunbridge, CS Weickert, JE Kleinman, MM Herman, J Chen, BS Kolachana, PJ Harrison and DR Weinberger Catechol-o-Methyltransferase Enzyme Activity and Protein Expression in Human Prefrontal Cortex across the Postnatal Lifespan. *Cerebral Cortex* 2007 17(5):1206-1212.
259. Vorstman JA, Turetsky BI, Sijmens-Morcus ME, de Sain MG, Dorland B, Sprong M, et al. Proline Affects Brain Function in 22q11DS Children with the Low Activity COMT(158) Allele. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(3):739–746.

-
260. Emanuel BS. Molecular mechanisms and diagnosis of chromosome 22q11.2 rearrangements. *Dev Disabil Res Rev.* 2008;14(1):11-8. Review.
261. Cui Y, Li G, Li S, Wu R. Designs for linkage analysis and association studies of complex diseases. *Methods Mol Biol.* 2010;620:219-42. Review.
262. Handoko HY, Nyholt DR, Hayward NK, Nertney DA, Hannah DE, Windus LC, McCormack CM, Smith HJ, Filippich C, James MR, Mowry BJ. Separate and interacting effects within the catechol-O-methyltransferase (COMT) are associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2005 Jun;10(6):589-97.
263. Funke B, Malhotra AK, Finn CT, Plocik AM, Lake SL, Lencz T, DeRosse P, Kane JM, Kucherlapati R. COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Behav Brain Funct.* 2005 Oct 18;1:19.
264. Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry.* 2003 Apr;160(4):636-45.
265. Cannon, Tyrone D. The inheritance of intermediate phenotypes for schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry.* 2005 March;18 :135-140.
266. Berrettini WH. Genetic bases for endophenotypes in psychiatric disorders. *Dialogues Clin Neurosci.* 2005;7(2):95-101.
267. Bertolino A, Caforio G, Blasi G, De Candia M, Latorre V, Petruzzella V, et al. Interaction of COMT (Val(108/158)Met) genotype and olanzapine treatment on prefrontal cortical function in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2004 Oct;161(10):1798-805.
268. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, Taylor A, Arseneault L, Williams B, Braithwaite A, Poulton R, Craig IW. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biol Psychiatry.* 2005 May 15;57(10):1117-27.
269. Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisanté A, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Yakir B, Zak NB, Darvasi A. COMT: a common susceptibility gene in bipolar disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004 Jul 1;128B(1):61-4.

-
270. Chen X, Wang X, O'Neill AF, Walsh D, Kendler KS. Variants in the catechol-o-methyltransferase (COMT) gene are associated with schizophrenia in Irish high-density families. *Mol Psychiatry*. 2004 Oct;9(10):962-7.
271. Chien YL, Liu CM, Fann CS, Liu YL, Hwu HG. Association of the 3' region of COMT with schizophrenia in Taiwan. *J Formos Med Assoc*. 2009 Apr;108(4):301-9.
272. Bray NJ, Buckland PR, Williams NM, Williams HJ, Norton N, Owen MJ, O'Donovan MC. A haplotype implicated in schizophrenia susceptibility is associated with reduced COMT expression in human brain. *Am J Hum Genet*. 2003 Jul;73(1):152-61.
273. Vidgren J, Svensson LA, Liljas A. Crystal structure of catechol O-methyltransferase. *Nature* 1994 ; 368 : 354-358.
274. Liu HL, Wang WC. Protein engineering to improve the thermostability of glucoamylase from *Aspergillus awamori* based on molecular dynamics simulations. *Protein Eng* 2003; 16: 19-25.
275. Zhu G, Lipsky RH, Xu K, Ali S, Hyde T, Kleinman J, Akhtar LA, Mash DC, Goldman D. Differential expression of human COMT alleles in brain and lymphoblasts detected by RT-coupled 5' nuclease assay. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004 Dec;177(1-2):178-84.
276. Matsumoto M, Weickert CS, Akil M, Lipska BK, Hyde TM, Herman MM, Kleinman JE, Weinberger DR. Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function. *Neuroscience*. 2003;116(1):127-37.
277. Hyman SE, Fenton WS. Medicine. What are the right targets for psychopharmacology? *Science*. 2003 Jan 17;299(5605):350-1.
278. Palmatier MA, Pakstis AJ, Speed W, Paschou P, Goldman D, Odunsi A, Okonofua F, Kajuna S, Karoma N, Kungulilo S, Grigorenko E, Zhukova OV, Bonne-Tamir B, Lu RB, Parnas J, Kidd JR, DeMille MM, Kidd KK. COMT haplotypes suggest P2 promoter region relevance for schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2004 Sep;9(9):859-70.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

«Συχνότητα κατανομής των πολυμορφισμών του γονιδίου της COMT σε Έλληνες ασθενείς με σχιζοφρένεια και σε μάρτυρες».

Εισαγωγή: Η σχιζοφρένεια είναι μία από τις σοβαρότερες ψυχικές διαταραχές, η οποία εκδηλώνεται με θετικά και αρνητικά συμπτώματα, αποδιοργανωμένη συμπεριφορά και επηρεάζει τόσο την λειτουργικότητα, όσο και το περιβάλλον του πάσχοντος. Αφορά το 1% του πληθυσμού παγκοσμίως. Επιπλέον, δεν υπάρχουν συγκεκριμένοι βιολογικοί δείκτες για τη διάγνωση της νόσου, η οποία στηρίζεται σε υποκειμενικά κριτήρια κλινικής εξέτασης. Πιστεύεται ότι η σχιζοφρένεια είναι το αποτέλεσμα μίας πληθώρας παραγόντων, οι οποίοι δρουν συνεργικά για τη εκδήλωση της ασθένειας. Ένας από αυτούς είναι η διαταραχή του νευροδιαβιβαστικού συστήματος της ντοπαμίνης. Πρόσφατες μελέτες, οι οποίες προσπαθούν να διευκρινήσουν τον ρόλο των πολυμορφισμών της κατεχολ-ο-μεθυλτρανφεράσης (COMT), ένζυμο που αποικοδομεί την ντοπαμίνη, έχουν δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Σκοπός: Στόχος της μελέτης μας είναι να εξετάσουμε την πιθανή συσχέτιση τριών πολυμορφισμών του γονιδίου της COMT (rs737865,rs4680 και rs165599) με τη σχιζοφρένεια.

Υλικά –Μέθοδος: Στη μελέτη συμμετείχαν 108 ασθενείς με σχιζοφρένεια, οι οποίοι προέρχονταν από το Ψυχιατρικό Νοσοκομείο «Δαφνί» και 97 δείγματα υγιών μαρτύρων, τα οποία ελήφθησαν από την τράπεζα δειγμάτων της spin off εταιρείας του Πανεπιστημίου Αθηνών Research Diagnostics. Έγινε γονοτύπηση των τριών μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών με την αναλυτική μέθοδο PCR-real time και με τη βοήθεια του μηχανήματος Light Cycle®480 της εταιρίας Roche. Το κριτήριο χι-τετράγωνο και η λογαριθμική ανάλυση παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των διαφορών μεταξύ ασθενών και μαρτύρων.

Αποτελέσματα: Κανένας εκ των τριών πολυμορφισμών, rs737865,rs4680 και rs165599, δε βρέθηκε να σχετίζεται ανεξάρτητα με τη σχιζοφρένεια. Παρόλα αυτά, η απλοτυπική ανάλυση έδειξε ότι οι ασθενείς έχουν υψηλότερη έκφραση του T-A-A απλοτύπου και οι συμμετέχοντες που φέρουν αυτό τον απλότυπο έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν την ασθένεια (ΣΚ=1.52; 95%ΟΑ:1.12-2.8; p=0.008).

Επιπλέον, οι συμμετέχοντες με γονότυπο T/C-A/A-A/A έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (ΣΚ=2,13; 95%ΟΑ:1.02-4.47; p=0.045) καθώς και οι συμμετέχοντες με έκφραση T/T-A/A-G/A (ΣΚ=3,20; 95%ΟΑ:1.02-10.05; p=0.046).

Συζήτηση: Στη μελέτη μας ο απλότυπος κινδύνου είναι ο T-A-A (A-A-A), ενώ ο T-G-G είναι ο προστατευτικός απλότυπος. Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε να ερμηνευτεί σύμφωνα με τη μελέτη των Bray et al., όπου ο G-G-G απλότυπος παρουσιάζει μειωμένη έκφραση COMTmRNA στον φλοιό. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι ο αντίστροφος απλότυπος A-A-A, που είναι και ο απλότυπος κινδύνου στη μελέτη μας, θα έχει αυξημένη έκφραση COMTmRNA στο φλοιό, συνεπώς χαμηλά επίπεδα ντοπαμίνης στον φλοιό και υψηλά επίπεδα ντοπαμίνης υποφλοιϊκά, γεγονός το οποίο συμβαίνει στη σχιζοφρένεια σύμφωνα με τη νεώτερη θεωρία της ντοπαμίνης. Επιπρόσθετα, δε μπορέσαμε να επιβεβαιώσουμε τους απλοτύπους κινδύνου που αναφέρουν άλλοι ερευνητές. Αυτή η μη συμφωνία μπορεί να οφείλεται στην ποικιλομορφία των διαφόρων πληθυσμών, η οποία προκύπτει από διαφορές της εξελικτικής τους πορείας, καθώς και στους περιορισμούς του διαγνωστικού συστήματος της ασθένειας.

Συμπέρασμα: Η μελέτη μας επιβεβαιώνει τη γενετική συμβολή της COMT στην σχιζοφρένεια στο δείγμα του Ελληνικού πληθυσμού που εξετάστηκε.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: σχιζοφρένεια, COMT, σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός, απλότυπος, ντοπαμίνη, δείγμα ελληνικού πληθυσμού

ABSTRACT

ANALYSIS OF COMT POLYMORPHISMS AND SCHIZOPHRENIA IN GREEK POPULATION. A CASE-CONTROL STUDY

Introduction

Schizophrenia, a severe psychiatric condition, characterized by disturbances of cognition, emotion and social functioning, affects almost 1% of world population. There are currently no biological markers for schizophrenia, therefore its diagnosis relies solely upon subjective assessment of individuals' clinical presentation. It has been assumed that schizophrenia occurs as a result of a primary defect within the dopamine neurotransmission system.

Aim

Recent studies that evaluated the role of Catechol-O-methyltransferase enzyme (COMT) polymorphisms in the occurrence of schizophrenia have resulted in ambiguous findings. The current study was conducted in order to gain an insight on the possible association of schizophrenia with three polymorphisms, namely, rs737865, rs4680 and rs165599.

Materials and methods

All schizophrenia patients participating in the study were recruited from the Athens "Dafni" Hospital whereas controls from the sample bank of the spin off company of University of Athens "Research Diagnostics". SNPs were genotyped using PCR-real time analysis on the LightCycler® 480 instrument (Roche). Chi-square test and logistic regression analysis were used to assess differences among cases and controls.

Results

A total of 108 patients diagnosed with schizophrenia and 97 individuals without a history of psychiatric disorder participated at the study. None of the three SNPs rs737865, rs4680 and rs165599 were found to be independently associated with schizophrenia. However, haplotype analysis showed that cases have higher expression of the T-A-A haplotype, and participants with that haplotype were at increased risk for developing the disease

(OR=1.52; 95%CL: 1.12-2.08; p=0.008). Lastly, participants with genotype T/C-A/A-A/A were more susceptible to the disease (OR=2.13; 95%CL: 1.02-4.47; p=0.045). Similarly, participants with T/T-A/A-G/A were more likely to develop the disease (OR=3.20; 95% CI: 1.02-10.05; p=0.046)

Discussion

In our haplotype analysis, we found that the A-A-A haplotype had association with the disease. We failed to replicate the risk haplotype observed in other studies. We attributed the difference to varying evolutionary histories of the populations, and to limitations in the diagnostic system. Possibly, schizophrenia is a multi-factorial disorder with many genes contributing to its susceptibility, whereas the COMT variants, via mutual interaction with other genes and environmental factors, may increase the risk of the disease. Our study adds to the above hypothesis showing an association of the COMT gene and schizophrenia in a Greek population.

KEY WORDS: COMT, schizophrenia, complex disorder, dopamine, single-nucleotide-polymorphism, haplotype, sample of Greek population

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: Ερμηνεία γενετικών όρων

Αλληλόμορφο ή αλληλίο (allele):	Μία από τις εναλλακτικές μορφές ενός γονιδίου με την ίδια λειτουργικότητα, που βρίσκονται ανά ζεύγη σε κάθε ζεύγος ομόλογων χρωμοσωμάτων (εκτός από το XY).
Ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium):	Η τάση συγκεκριμένων συνδυασμών αλληλόμορφων σε δύο ή περισσότερους συνδεδεμένους γενετικούς τόπους, όχι απαραίτητα στο ίδιο χρωμόσωμα να εμφανίζονται μαζί συχνότερα απ' ό,τι θα αναμενόταν στατιστικά. Η ανισορροπία σύνδεσης δεν πρέπει να συγχέεται με τη σύνδεση.
Απλότυπος (haplotype):	Η αναφορά σε δύο ή περισσότερα αλληλόμορφα, για τα οποία υπάρχει μεταξύ τους στατιστική συσχέτιση και βρίσκονται σε ένα μονό χρωμόσωμα. Θεωρείται ότι αυτή η συσχέτιση και η ταυτοποίηση μερικών αλληλόμορφων ενός απλοτύπου μπορεί να καθορίσει όλες τις πολυμορφικές θέσεις στη συγκεκριμένη περιοχή.
Αρχή των Hardy-Weinberg ή Hardy-Weinberg (H-W) ισορροπία:	Η αρχή αυτή δηλώνει ότι οι συχνότητες και των αλληλόμορφων και των γονοτύπων σε έναν πληθυσμό παραμένουν σταθερές (είναι σε ισορροπία) από γενεά σε γενεά, εκτός και εάν υπάρξουν συγκεκριμένες επιροές. Αν υποθέσουμε ότι η συχνότητα του αλληλίου A στον πληθυσμό είναι p και του B είναι q, τότε απλά καταλαβαίνουμε ότι $p+q=1$ και $(p+q)^2=1$. Αν τηρούνται ορισμένες βασικές προϋποθέσεις στον πληθυσμό που μελετάμε (όπως π.χ. να μην υπάρχει σημαντική μετανάστευση πληθυσμών) τότε η συχνότητα των γονοτύπων που αναμένουμε είναι για τους AA p^2 , τους AB $2pq$ και τους BB q^2 . Απόλυτη ταύτιση των παρατηρούμενων συχνοτήτων με τις αναμενόμενες βάσει H-W δεν είναι συχνή, αλλά οποιαδήποτε στατιστικά σημαντική απόκλιση από τη συγκεκριμένη αρχή μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη στατιστική ανάλυση και να οδηγήσει σε ψευδή συμπεράσματα.
Γονίδιο:	Αλληλουχία βάσεων DNA, μικρό τμήμα γενετικού υλικού που φέρει πληροφορίες (κωδικοποιεί) την παραγωγή μίας συγκεκριμένης πρωτεΐνης.

Ενδοφαινότυπος:	Κληρονομήσιμα, συνδεδεόμενα με ασθένειες νευροφυσιολογικά, νοητικά ή νευροβιολογικά χαρακτηριστικά που πιστεύεται ότι βρίσκονται στην αιτιολογική οδό, δηλαδή ενδιάμεσα, μεταξύ του γονοτύπου κινδύνου και του κλινικού συνδρόμου, αλλά σχετίζονται στενότερα με το γενετικό υπόστρωμα από ότι η διαταραχή ως σύνολο.
Πολυμορφισμός (polymorphism):	Φαινόμενο κατά το οποίο σε ένα πληθυσμό εμφανίζονται δύο ή περισσότερες γενετικά καθορισμένες μορφές (αλληλόμορφα) για κάποια γενετική θέση, με συχνότητα τουλάχιστον 1%.
Σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (single nucleotide polymorphism, SNP):	Πολυμορφισμός σε κάποια γενετική θέση, που οφείλεται σε μεταβολή ενός μόνο νουκλεοτιδίου.
Συμφωνία (concordance):	Όταν τα δύο μέλη ενός ζεύγους διδύμων εμφανίζουν την ίδια νόσο, τότε λέμε ότι οι δίδυμοι βρίσκονται σε συμφωνία, ενώ την αντίθετη περίπτωση την αποκαλούμε ασυμφωνία.
Σύνδεση (linkage):	Φαινόμενο κατά το οποίο δύο γονίδια βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα, σε τόσο μικρή απόσταση μεταξύ τους, ώστε να συγκληρονομούνται και έτσι παρατηρείται μειωμένος ανασυνδυασμός μεταξύ τους
Φαινότυπος:	Η εμφάνιση ή η παρατηρούμενη φύση ενός ατόμου, που είναι το ορατό αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του γονιδιώματος του και του περιβάλλοντος.