한국인 Catechol-O-Methyltransferase(COMT)

표현형 활성의 인구 집단 연구

서울대학교 의과대학 약리학교실, 신경과학교실*, 서울대학교 병원 임상약리실

임동석, 권순억*, 장인진, 전범석*, 김명석, 신상구

= Abstract =

Population Study of Catechol-O-Methyltransferase(COMT) Phenotype in Korean

Dong-Seok Yim, Soon-Uk Keon*, In-Jin Jang, Beom-Suk Jeon*, Myung-Suk Kim, Sang-Goo Shin

Department of Pharmacology, Neurology, Clinical Pharmacolgy Unit SNU Hospital, Seoul, Korea*

Background : Catechol-O-methyl transferase (COMT) which catalyses some endogenous catecholamines, L-dopa and methyl dopa is polymorphic in its activity. The activity is determined genetically and inherited as an autosomal co-dominant pattern. Its distribution has been reported in white and black populations in America but not well known in Asians including the Korean. To evaluate the distribution profile of COMT activity in red blood cell(RBC) in Korean population, we assayed COMT activities of healthy 343 unrelated volunteers by radiochemical method.

Method : To evaluate the distribution profile of COMT activity in RBC in Korean population, we recruited 343 healthy volunteers of 20~39years old(mean 23.5yrs, male/female=277/66). COMT activity was measured by radiochemical method using ^1C -S-adenosyl methionine as methyl donor.

Results : Erythrocyte COMT activity in healthy Korean population ranged from 0.0 to 28.0 with median value 9.0 (nmole/hr/ml packed RBC). Sex difference, smoking or drinking evaluated by Wilcoxon-Rank sum test and Mann-Whitney U test did not influence the activity. Their phenotypic profile analysed under the assumption of trimodal distribution was supposed to be comprised of 42% high, 48% middle, 10% low activity groups. Compared to previous reports, as for high activity phenotype, Korean had higher proportion than American White(23%) and lower than Black(55%).

Conclusion : The phenotypic profile of COMT in Korean population evaluated in this study will be used as a basic data for the L-dopa or COMT inhibitor therapy of Parkinsonism as well as for the understanding of interethnic difference of drug metabolism.

*본 연구는 1995년도 서울대학교 병원 지정 연구비(연구번호356) 지원과 1995년도 기초의학 연구비 일부 지원에 의해 수행되었음.

KEY WORDS : COMT · Polymorphism · Phenotype.

서 론

치료약물의 개발 과정에서 많은 임상적 연구를 통해 적응증에 대한 약물의 상용량이 결정되지만 많은 경우 환자에 따른 약물 반응의 현저한 차이를 나타내고 있으며 이들 약물의 적정용량은 개인마다 큰 차이가 있게 된다. 예를 들면 삼산화 항우울제의 경우 대개 3~6배 범위의 상용량이 추천되고 있으나 실제 우울증 환자에서의 적정량의 개인차는 30배 이상이며 현재 생산되고 있지는 않지만 debrisoquine 같은 항고혈압제의 적정량은 40배 이상의 개인차가 있음이 알려져 있다¹⁾. 이러한 약리반응의 개인차는 적정약물요법의 수행에 큰 걸림돌이 되고 있으며 70년대 이후 고식적 약물투여가 아닌 개인마다 각자에게 적합한 용량을 투여하자는, 합리적 약물요법을 위한 각종의 임상약리학 적 연구와 치료가 행해져 왔다.

약동학적 개인차는 많은 약물의 약리반응의 개인차를 설명할 수 있는 가장 중요한 요소이며 이는 일정량의 약물투여 후 혈중 약물 농도의 개인차로 나타내어 진다. 정상 건강인 또는 간, 신기능이 정상인 환자에서도 특이체질(idiosyncrasy) 현상으로 불려지던 큰 개인차가 최근 Cytochrome P450을 비롯한 약물의 대사에 관여하는 효소 활성의 유전적 다형성이 중요한 요인임이 알려져 있다. 여기에는 isoniazide나 hydralazine과 같이 포함(conjugation) 효소 활성의 유전적 다형성(genetic polymorphism)을 보이는 경우²⁾도 있다. 이들 포함 효소들 중 일부 약물대사 과정에 관여하는 methyl conjugation 경로의 경우에도 그 대사능의 유전적 다형성이 알려져 있다. 대표적인 methyltransferase로는 catecholamine계 약물을 O-methylation 시키는 COMT³⁾, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, azathioprine 등을 methylation시키는 thiopurine methyltransferase(이하 TPMT⁴⁾, captopril, penicillamine 등을 S-methylation 시키는 thiol methyltransferase⁵⁾ 등이 알려져 있으며 실

험동물과 인간을 대상으로 한 연구에서 S-methylation, O-methylation, N-methylation은 모두 유전적 인자에 의하여 조절됨이 알려져 있다.

COMT는 내인성 카테콜아민들과 levodopa, methyl dopa 등의 catechol계 약물들을 O-methylation 시킴으로써 대사하는 효소로서 Axelrod 등⁶⁾에 의해 인체에서의 존재가 확인되었다. 메틸기를 포함시키는 반응은 많은 약물들의 생체내 대사에 있어서 중요한 위치를 차지하는 대사경로 중의 하나이며 인체의 간, 심장, 림프구, 적혈구 등에서 효소활성도의 측정이 이루어졌고 이들 각 조직에서의 효소활성은 상호 관련성을 갖고 있음이 알려져 있으며⁷⁾ 사람의 적혈구에서의 효소활성은 높은 형의 상동염색체(COMT^H)와 낮은 형의 상동염색체(COMT^L)에 의해 유전되는 것으로 알려져 있다³⁾. 다수의 인구집단을 대상으로 한 표현형 연구결과에 따르면 미국의 백인의 경우 대략 25%가 저활성형 상동염색체만으로 이루어져 있다고 판단되는(COMT^L, COMT^L) 표현형을 갖고있으며 50%는 혼합된 표현형(COMT^H, COMT^L), 그리고 25%는 고활성형만으로 이루어진 표현형(COMT^H, COMT^H)을 갖고있어 COMT^H와 COMT^L은 각각 0.5씩의 빈도(gene frequency)를 갖고 있다고 보고되었다³⁾. 그러나 그 이외의 인종, 민족에 있어서의 COMT 활성의 분포는 잘 알려져 있지 않으며 최근 미국 흑인을 대상으로 한 연구에서 저활성 표현형이 7%, 중간형이 38%, 고활성형이 55%로 나타나 각 인종간, 민족간에 상당한 차이가 있음을 알 수 있다⁸⁾.

연구 방법

1. 연구대상

혈연관계가 없고 건강한 성인 남녀를 대상으로 하여 서면동의를 얻은 후 혈청중 AST, ALT, BUN, creatinine 등이 정상범위내임을 혈액검사로써 확인하고

Table 1. Demographic profile of the healthy Korean subjects (Mean $\pm$ SD, Range, Median)

	No of subjects(n=343)	Median
Age(year)	23.5 $\pm$ 3.0(20-39)	23
Sex	M/F=277/66	
Weight(kg)	62.9 $\pm$ 9.1(38-98)	63
Smoking	Yes/No=98/245	
Drinking	Yes/No=181/143	

음주, 흡연, 약물복용력 등을 설문조사를 통하여 확인하였다. 343명의 피험자들의(평균연령 23.5세, 20~39, 남/녀=277/66) 연령, 성별 등을 기록하고 이들의 적혈구내 COMT의 활성을 측정하였다. (Table 1)

2. COMT 활성의 측정

COMT는 생체내의 S-adenosyl methionine (SAM)으로 부터 메틸기를 다른 기질로 옮겨주는 역할을 하는 메틸전이효소 중의 하나이므로 충분한량의 SAM과 dihydroxy benzoic acid(DBA, 실제 생체 내에서는 도파민이나 카테콜아민에 메틸기가 붙게 되지만 도파민의 경우 반응속도가 느리고 카테콜아민의 경우 메탄올 등의 부산물이 생성되는 단점이 있다.)를 가한후 적정온도와 pH 하에서 일정시간 반응 후 생성된 반응산물, 즉 DBA에 메틸기가 붙은 4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid (HMBA)의 양을 측정하는 것으로서 HMBA의 정량을 위하여 SAM에서 전이되는 메틸기를 방사성 동위원소인 ^{14}C 로 표지하여 반응종료후 HMBA를 유기용매(톨루엔)로써 추출하여 ^{14}C 의 자연붕괴로 발생하는 베타선을 측정하였다. 실제 COMT 활성의 측정시에는 측정하고자 하는 시료를 배양하여 얻은 CPM값에서 DBA를 넣지않고 배양하여 얻은 CPM값을 대조값으로 이용, 생체내에서 DBA이외의 내인성 물질들(도

파민이나 에피네프린 등)이 COMT에 의해 SAM과 반응하여 그 산물들이 나타낼 수 있는 CPM값을 빼주었다. COMT 활성의 측정은 Raymond 등의 방법⁹⁾을 이용하였으며 요약하면 다음과 같다.

피험자의 주와부 정맥에서 1회용 주사기를 이용, 5~7ml의 혈액을 취하여 3000rpm $\times$ 10분간 4°C에서 원심분리하여 혈장과 백혈구막층을 제거하고 생리식염수를 이용, 2회 세척하고 같은 방법으로 원심분리하여 적혈구만 남겼다. 남은 적혈구에 생리식염수 2ml를 가하여 잘 섞어 준 후 모세유리관으로써 일부를 취하여 원심분리후 hematocrit를 측정하고 나머지를 15ml polypropylene 시험관에 1ml 씩 분주하여 -70°C에 냉동보관하였다. 냉동한 적혈구 부유액을 실험을 위하여 상온에 방치하여 녹이고 증류수 4ml를 가하여 희석시킨 후 12000rpm $\times$ 10분간 4°C에서 원심분리 후 상층액 200ml씩을 취하여 반응용액 100ml에 혼합하였다. 반응용액은 적혈구 부유액과 혼합시 Tris-HCl 0.08M(pH=7.5), MgCl_2 , Hot-SAM(^{14}C -S-adenosyl methionine, 56mCi/mmol) 2.8mM, Cold-SAM 20.2mM, DBA 1mM, dithiothreitol 4.2mM이 되도록 준비하였다. Control 샘플은 DBA대신 같은 부피의 증류수를 넣었으며 37°C 항온진탕 수조에서 45분간 배양하여 반응시킨 후 0.1N HCl 100ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 그리고 혼합액에 톨루엔 5ml를 가하고 30초간 진탕하여 COMT에 의해 생성된 반응 산물인 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid(HMBA)를 추출한 후 3000rpm $\times$ 10분간 원침하여 상층의 톨루엔 3.5ml를 따서 방사화학측정용 바이알에 넣었다. 여기에 scintillation cocktail 10ml과 100% 에탄올 1ml를 가하여 가볍게 흔들어 준 후 베타카운터에 걸어 5분씩 CPM을 측정하였다. COMT활성은 1ml의 농축적혈구(packed RBC)가 37°C에서 60분 동안 생산할 수 있는 반응 산물(HMBA)의 양을 nmole 단위로써 나타내었다.

3. 통계학적 분석

상기 집단에서 적혈구 COMT의 활성도와 유전적 다형성의 검토는 상업적 통계계산 프로그램인 SPSS for Windows를 이용, 다음과 같이 시행하였다.

1) 각 환자군에서의 COMT 활성의 표현형의 빈도를 파악하기 위해 그 빈도를 히스토그램으로써 표시하고 수학적계산용 프로그램인 Sigmaplot for Windows로써 각 표현형의 분율을 평가하였다.

2) 측정된 COMT활성을 Wilcoxon-Rank sum test 법으로 성별, 연령군, 대조군/환자군 등을 기준으로 하여 비교, 분석하였다. 또한 각 군에서 피험자의 체중, 신장, 흡연력, 음주력 등을 조사하여 COMT 활성과의 관계를 분석하였다.

결 과

각 실험일의 측정 오차(interassay variation)는 13% 였으며 실험중의 오차(intraassay variation)는 3% 였다. 측정결과는 Fig. 1에 히스토그램으로써 나타내었다. 정상 성인에서의 적혈구 COMT 활성도는 9.0U(nmole/hr/ml packed RBC)의 median 값을 나타내었으며 0.0에서 28.0에 이르기까지 분포했다. 피험자들에서의 결과를 성별로 분류하여 분포양상을 관찰했을 때 남녀 모두에서 3개의 그룹을 구분할 수 있었다. 비모수적 통계검정법인 Wilcoxon-Rank sum test 및 Mann-Whitney U test로 분석 결과 음주, 흡연력, 성별 등의 영향은 없는 것으로 나타났다

고 찰

1950년대 초 고혈압 치료제로 쓰이던 reserpine의 부작용으로 유발된 파킨슨 증후군이 신경말단에서의 도파민의 고갈로 인해 발생함이 알려진 이래 도파민은 basal ganglia에 집중적으로 분포되어 있고 추체의로게 운동기능 조절에 중요한 역할을 하며 그 대사이상

Fig. 1. Distribution of COMT activity in the healthy Korean population
Erythrocyte COMT activity in healthy Korean population ranged from 0.0 to 28.0 with median value 9.0 (nmole/hr/ml packed RBC) Their phenotypic profile analysed under the assumption of trimodal distribution was supposed to be comprised of 42% high, 48% middle, 10% low activity groups.

이 basal ganglia의 질병과 연관됨이 알려져 있다¹⁰⁾. 도파민의 생화학적 합성 경로가 밝혀지면서 caudate nucleus, putamen, pallidum에서의 도파민 함량의 감소가 확인되었고 1960년대 후반부터 도파민의 전구물질로서 혈액-뇌 장벽을 통과할 수 있는 L-dopa 투여법이 파킨슨 병의 치료법으로 정착되었다.

L-dopa는 경구투여시 neutral L-amino acid carrier에 의해 능동적으로 흡수되어¹¹⁾ 투여 1~2시간내

에 최고 혈중농도에 도달하며 십이지장에서 가장 활발하게 흡수되지만 식이중의 중성 아미노산(neutral amino acid)이 흡수과정에서 경쟁하므로 그 정도는 식사에 의한 영향이 매우 큰 것으로 알려져 있다. 혈액내에 흡수된 L-dopa는 L-amino acid decarboxylase에 의해 급속히 분해되어 투여량의 80% 이상이 20분 내에 혈중에서 제거되고 결국 혈액-뇌 장벽을 통과하는 것은 1% 미만이다. 이를 극복하기 위하여 decarboxylase 억제제(carbidopa, benserazide)를 병용투여시 생체이용률의 증가와 함께 최고농도는 2~10배 증가하며 L-dopa 단독 투여 후 환자의 소변에서는 주로 decarboxylase의 대사산물인 homovanillic acid(HVA) 등이 높은 농도로 검출되지만 decarboxylase 억제제 투여후에는 COMT에 의한 대사산물인 3-O-methyldopa(3-OMD)의 최종 산물인 vanillyl acetic acid(VLA)가 크게 상승함이 보고되었고 COMT가 L-dopa의 대사에 중요한 역할을 하게 됨을 알 수 있다.

COMT에 의해 실제 대사되는 L-dopa의 경우 그 대사산물인 3-OMD에 관해 많은 연구가 행해졌는데, 초기에는 3-OMD가 L-dopa의 전구물질로서 작용하는지 여부에 관한 연구¹²⁾가 행해졌으나 유의한 효과가 없는 것으로 판명되었고 이후 3-OMD에 관한 관심은 주로 L-dopa 투여시의 부작용(dyskinesia) 또는 L-dopa의 약효와 대사에 미치는 영향에 관한 것으로 전환되었다. 말초에서 COMT에 의해 생성된 3-OMD가 L-dopa와 마찬가지로 neutral amino acid carrier에 의해 혈액-뇌장벽을 통과하므로 L-dopa의 중추신경계로 의 이행을 방해할 수 있다는 주장은 논란이 되고 있으며^{12,13)} 혈중 3-OMD와 L-dopa 치료시의 dyskinesia, on-off 현상 등과의 연관성에 관해서도 많은 상반된 보고가 있다.^{14~18)}

3-OMD는 L-dopa의 부작용과의 연관성은 현재까지 명확히 입증되지 않았으나 혈중 반감기가 15시간 이상으로 L-dopa와는 달리 약물투여시간에 무관하게 비교적 일정한 농도가 유지되므로 생체내에서 COMT의 활성을 반영하는 지표로서 이용될 수 있다. 또한

L-dopa 투여를 시작하는 파킨슨 병 환자들에서 COMT 활성의 급격한 감소가 보고된 바 있는데¹⁹⁾ 이러한 현상의 원인으로 L-dopa 투여에 의해 체내의 S-adenosyl methionine(이하 SAM)이 고갈되기 때문이라는 주장도 제기되었으나 실제 적혈구의 COMT 활성측정시 내인성 SAM 보다 훨씬 높은 농도의 SAM을 사용하므로 타당치 않은 설명으로 사료된다. 또한 최근 개발된 수종의 COMT 억제제를 파킨슨 병 환자에게 투여하여 L-dopa의 혈중농도의 변동폭을 줄이고 부작용을 줄일 수 있었다는 실험결과가 보고된 바 있으나²⁰⁾ 실제 다수의 환자군에서 COMT 활성의 평균값과 분포를 정상인과 비교, 검증하는 것이 이와 같은 약물개발에 선행되어야 할 연구라 할 것이다.

표현형의 분포를 보기 위하여 COMT 활성을 가로축에 표시하고 그 빈도의 히스토그램 막대 중 골짜기를 이루는 곳은 antimode(경계값)라 하며 각 표현형의 경계로 삼는 방법이 인구집단에서의 표현형 분석에 쓰이고 있다. 각 표현형의 변이계수(Coefficient of Variation; CV)값은 모두 동일하다는 가정²¹⁾하에 분석하였으며 이는 1960년대부터 확립된 집단 유전학적 연구결과로부터 얻어진 경험적인 법칙으로 널리 인정되고 있다. 또한 멘델의 유전법칙을 따르는 가장 기본적인 가정으로 인구집단에서 고탈성형을 백인종에서 23% 흑인종에서 55%로 나타난 것⁸⁾에 비하면 중간 정도의 수치였다.

Weinshilbaum 등³⁾의 미국백인을 대상으로 한 연구에서는 COMT 활성이 5이하인 개체가 거의 보고되지 않았으나 본 연구에서는 20% 가량의 70여명의 피험자가 5이하의 활성을 나타냈다는 사실은 한국인에서의 L-dopa 투여량의 적정성 또는 부작용 발생 빈도의 인종차 등을 연구 시 참고해야 할 차이라 할 수 있을 것이다. 그러나 같은 미국인을 대상으로 한 Mcleod 등⁸⁾ 등의 연구에서는 흑인과 백인 모두에서 5이하의 피험자의 비율은 본 연구와 유사한 양상을 보였다. 표현형의 분포를 기준으로 한 한국인 COMT 활성의 고 활성형과 중등도 활성형의 경계치(anti-mode)는 명확히 구분하기 힘들었다.

본 연구와 Weinshilbaum 등의 미국백인을 대상으로 한 연구, McLeod 등의 미국 백인과 흑인을 대상으로 한 연구는 시료의 전처리 및 효소활성 측정방법 등이 모두 극히 유사한 방법으로 이루어졌다. 그러나 같은 미국 내 백인종을 대상으로 한 연구에서도 Weinshilbaum 등은 COMT활성이 25U 이상인 피험자가 전체 피험자 373명 중 전무하였다고 보고한 데 비하여 McLeod 등은 202명의 백;인 중 14명이 25U 이상임을 보고하였다. 이러한 상이점을 고려해 볼 때 비록 수백명의 피험자를 대상으로 한 연구라 할 지라도 그 결과가 모집단의 효소활성 분포를 대변한다고 단순히 결론 내릴 수는 없고 단지 참고적인 수치를 제공하고 있음을 알 수 있다.

결 론

본 연구결과 한국의 건강 성인의 적혈구에서 측정된 COMT의 활성은 그 유전적 다형성을 추정할 수 있게 해 주는 세개의 그룹을 가진 분포로써 설명할 수 있었다. 이러한 결과로부터 한국인에서의 COMT 활성의 분포는 흑인종 및 백인종에서의 분포양상의 중간형 정도의 양상을 나타냄을 알 수 있었고 향후 타 아시아 지역의 인종, 민족집단을 대상으로 연구가 수행된다면 더욱 구체적인 인종, 민족간의 차이를 규명할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 파킨슨 병 환자에서 COMT의 생체 약물대사와의 관련성을 검토한다면 향후 L-dopa의 약물 요법에 있어 적정용량의 개별화(individualization) 및 COMT 억제제의 병용투여 등에 있어 기본적인 참고자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

배 경:

Catechol-O-methyl transferase (COMT)는 내인성 카테콜아민을 비롯하여 L-dopa 와 methyl-dopa 등을 대사시키며 상염색체를 통해 유전되는 것

로 알려져 있다. 미국의 흑인과 백인에서 그 분포에 관한 보고가 있으나 한국인을 비롯한 아시아 인종에서의 분포는 알려져 있지 않고 있다.

방 법:

한국인 적혈구내 COMT 활성의 분포양상을 파악하고 이를 타 인종과 비교하기 위하여 건강한 피험자 343명(20~39세, 평균연령 23.5세, 남/여=277/66)을 대상으로 적혈구내 COMT 활성을 ^{14}C -S-adenosyl methionine을 methyl donor로 이용하여 방사화학적 방법으로 측정하였다. 성, 음주, 흡연 등이 COMT활성에 미치는 영향은 Wilcoxon-Rank sum test 와 Mann-Whitney U test로써 검정하였다.

결 과:

연구결과 한국인 건강 성인의 적혈구에서 측정된 COMT의 활성은 성별, 음주, 흡연력 등과 무관하게 median 9.0(0~28.0)(nmole/hr/ml packed RBC)이었으며 표현형으로 구분한 고활성형의 빈도는 42%, 중등도 활성형은 48%, 저활성형은 10%로 나타났다. 이는 고활성의 빈도(34%)의 경우 미국 백인의 23%보다는 높고 흑인의 55% 보다는 낮은 빈도를 나타내는 등 흑인과 백인의 중간적 형태였다.

결 론:

본 연구결과와 약물유전학적 인종차에 관한 기본적 정보로서 이용될 수 있으며 파킨슨 병 환자에서 L-dopa, COMT 억제제 등의 약물요법을 위한 정보로서 이용할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Smith RL. *Introduction ; Human genetic Variation in oxidative drug metabolism. Xenobiotica* 1986, 16:361-365.
2. Sunhara S, Urano M, Ogawa H. *Genetical and geographical studies on isoniazide inactivation. Science* 1961, 134:1530-1531.
3. Weinsilbaum RM, Raymond FA. *Inheritance of*

- low erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity in man. Am J Hum Genet* 1977, 29: 125-135.
4. Weinshilbaum RM, Sladek SL. *Mercaptopurine pharmacokinetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. Am J Hum Genet* 1980, 32: 651-662.
5. Weinshilbaum RM, Sladek SL, Klumpp S. *Human erythrocyte thiol methyltransferase: radiochemical microassay and biochemical properties. Clin Chim Acta.* 1979b, 97: 58-71.
6. Axelrod J, Tomchick R. *Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. J of Biol Chem* 1958, 233: 702-705.
7. Weinshilbaum RM. *Methyltransferase pharmacogenetics. Pharmacol Ther* 1989, 43: 77-90.
8. Mcleod HL, Fang L. *Ethnic differences in erythrocyte COMT activity in black and white Americans. J Pharmacol Exp Ther* 1994, 270: 26-29.
9. Raymond FA, Weinshilbaum RM. *Microassay of human erythrocyte catecholamine-O-methyltransferase. Clin Chim Acta* 1975, 58: 185-194.
10. Carlsson A. *The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. Pharmacol Rev* 1959, 11: 490-493.
11. Wade DN, Mearrick PT, Morris J. *Active transport of L-dopa in the intestine. Nature* 1973, 242: 463-465.
12. Muentner M, Dinapoli R, Sharpless N. *3-O-methyldopa, L-dopa and trihexyphenidyl in the treatment of Parkinsons/disease. Mayo Clin Proc* 1973, 48: 173-183.
13. Wade LA, Katzman R. *3-O-methyldopa uptake and inhibition of L-dopa at the blood-brain barrier. Life Science* 1975, 131: 131-136.
14. Feurstein C, Tanche M, Serre F. *Does 3-O-methyldopa play a role in L-dopa induced dyskinesia? Acta Neurol Scand* 1977, 56: 79-82.
15. Rivera-Calilim L, Reilly DK. *Difference in erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity: A determinant of levodopa response. Clin Pharmacol Ther* 1984, 35: 804-809.
16. Cedarbaum M, Kutt H, McDowell F. *Clinical significance of the relationship between 3-O-methyldopa levels and levodopa intake. Neurology* 1988, 38: 533-536.
17. Fabbrini G, Juncos JL, Mouradian MM. *3-O-methyldopa and motor fluctuations in Parkinson s disease. Neurology* 1987, 37: 856-857.
18. Nutt JG, Woodward WR, Gancher ST. *3-O-methyldopa and the response to levodopa in Parkinson s disease. Ann Neurol* 1987, 21: 584-588.
19. Weiss JL, Cohn CK, Chase TN. *Reduction of catechol-O-methyltransferase activity by chronic L-dopa therapy. Nature* 1971, 234: 218-21.
20. Nutt JG, Woodward WR, Beckner RM. *Effect of peripheral COMT inhibition on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in Parkinsonian patients. Neurology* 1994, 44: 913-919.
21. Spencer N, Hopkinson DA, Harris H. *Quantitative differences and gene dosage in the human and red cell acid phosphatase polymorphism. Nature* 1964, 201: 299-300.