

ORIGINAL

Variabilidad en el gen *COMT* y modificación del riesgo de esquizofrenia conferido por consumo de cannabis

Blanca Gutiérrez^{a,b,*}, Margarita Rivera^a, Lourdes Obel^a, Kathryn McKenney^a, Rafael Martínez-Leal^a, Esther Molina^a, Montse Dolz^c, Susana Ochoa^c, Judith Usall^c, Josep Maria Haro^c, Miguel Ruiz-Veguilla^d, Francisco Torres^a y Jorge Cervilla^{a,b,e}

^aCIBERSAM Universidad de Granada, Granada, España

^bInstituto de Neurociencias Federico Olóriz, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada, Granada, España

^cSant Joan de Déu-Serveis de Salut Mental, CIBERSAM Sant Boi de Llobregat, Barcelona, España

^dHospital Neurotraumatológico de Jaén, Jaén, España

^eHospital Universitario San Cecilio, Servicio Andaluz de Salud, Granada, España

Recibido el 15 de enero de 2009; aceptado el 5 de marzo de 2009

PALABRAS CLAVE

Cannabis;
COMT;
Esquizofrenia;
Interacción genético-ambiental

Resumen

Introducción: Recientemente se ha propuesto que el incremento de riesgo de esquizofrenia en relación con el consumo de cannabis podría modificarse por el polimorfismo Val158Met (rs4680) del gen *COMT*. Estos hallazgos no han sido replicados hasta el momento en muestras independientes.

Material y métodos: En una muestra de 192 controles sanos y 91 pacientes con diagnóstico DSM-IV de esquizofrenia se exploró la posible interacción genético-ambiental de *COMT* y consumo de cannabis y su efecto en el riesgo de esquizofrenia. El polimorfismo funcional Val158Met del gen *COMT* se analizó mediante tecnología TaqMan. El consumo de cannabis se determinó teniendo en cuenta la frecuencia de su uso durante el último mes. Se aplicaron modelos de regresión logística para probar perfiles de riesgo genético y/o ambiental concretos definidos a priori para la esquizofrenia.

Resultados: El consumo de cannabis tiene firme relación con la condición de enfermo ($p < 0,0001$). El polimorfismo Val158Met del gen *COMT* no tenía relación con la esquizofrenia, si bien los individuos homocigotos Val/Val tendían a ser más frecuentes en el grupo de enfermos que en el de controles (el 34 frente al 27%; *odds ratio* = 1,39; intervalo de confianza del 95%, 0,78-2,47). Por último, se detectó un incremento no significativo ($p = 0,152$) de mujeres consumidoras de cannabis y portadoras del alelo Val en el grupo de enfermas al compararlo con el grupo control.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: blancag@ugr.es (B. Gutiérrez Martínez).

Conclusiones: Nuestros resultados apoyarían hallazgos recientes que describen un efecto modulador del gen *COMT* en el riesgo que confiere para la esquizofrenia el consumo y/o el abuso de cannabis. En nuestro estudio, este efecto sólo se observa en el grupo de mujeres. © 2009 Sociedad Española de Psiquiatría y Sociedad Española de Psiquiatría Biológica. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Cannabis;
COMT;
Schizophrenia;
Genetic-by-environment interaction

Variability in the *COMT* gene and modification of the risk of schizophrenia conferred by cannabis consumption

Abstract

Introduction: The risk of schizophrenia conferred by cannabis has recently been proposed to be modulated by the Val158Met polymorphism (rs4680) at the *COMT* gene. To date, these findings have not been replicated in independent samples.

Material and methods: We tested the potential gene-by-environment interaction between Val158Met genotype at the *COMT* gene and previous use of cannabis in schizophrenia in 192 healthy controls and 91 inpatients with DSM-IV schizophrenia. The functional *COMT* Val158Met polymorphism was analyzed using TaqMan technology. Cannabis use was measured by taking into account the frequency of intake during the previous month. Logistic regression models were used to test the interaction between genetic and environment factors.

Results: Cannabis use was strongly associated with the case condition ($p < 0.0001$). The Val158Met polymorphism at the *COMT* gene was not associated with schizophrenia, although Val/Val homozygosity tended to be more frequent in the case group than in the control group (34% vs 27%; OR = 1.39; 95% CI, 0.78-2.47). Finally, in women we found a non-significant trend toward the association when we tested for the interaction between cannabis use, the number of Val alleles and susceptibility to schizophrenia ($p = 0.152$).

Conclusions: Our results tend to support recent findings suggesting that the Val158Met polymorphism at the *COMT* gene modifies the risk of schizophrenia conferred by cannabis use. In our study, this possible effect was only detected in women. © 2009 Sociedad Española de Psiquiatría y Sociedad Española de Psiquiatría Biológica. Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El cannabis es una de las drogas más consumidas en el mundo. Clásicamente, se ha relacionado su uso con un riesgo incrementado para síntomas psicóticos y esquizofrenia, algo que corroboran estudios prospectivos llevados a cabo sobre amplias muestras poblacionales¹. Dos recientes revisiones indican, en concreto, que el cannabis actuaría como un verdadero factor causal en el origen de las psicosis, ya que incrementa el riesgo para estas enfermedades entre 1,4 y 1,9 veces^{2,3}. Este riesgo podría ser mayor en el caso de consumidores jóvenes, adolescentes, en los que quizás el efecto deletéreo del cannabis podría ser mayor al tratarse de individuos especialmente vulnerables en los que el desarrollo cerebral todavía no se habría completado^{4,5}.

El efecto del cannabis en el riesgo total para psicosis, y particularmente para esquizofrenia, además podría estar modulado por factores de tipo genético^{6,7}. Así, en un estudio llevado a cabo en Dunedin (Nueva Zelanda) sobre una cohorte de individuos seguidos desde su nacimiento hasta la edad de 26 años, se encontró que los homocigotos para el alelo Val (Valina) del polimorfismo Val158Met del gen de la

catecol-O-metiltransferasa (*COMT*) y que además habían consumido cannabis durante su adolescencia tenían, al menos, 5 veces más riesgo de presentar síntomas psicóticos y desarrollar un trastorno esquizofreniforme que los individuos con el mismo genotipo pero que no habían consumido antes cannabis⁸. La catecol-O-metiltransferasa es el principal metabolizador de la dopamina. El gen que contiene la información para su síntesis está situado en el cromosoma 22q11, una región que ha sido ligada a la esquizofrenia de forma consistente⁹ y en la que una microdeleción concreta se ha asociado al síndrome velocardiofacial, en el que son muy frecuentes los síntomas psicóticos¹⁰. Dentro del gen *COMT*, el polimorfismo Val158Met, también conocido como rs4680, se caracteriza por presentar dos posibles alelos o variantes genéticas (Val o Met) con repercusiones funcionales diferentes en la proteína resultante. Así, el alelo Val determina una mayor actividad de la enzima catecol-O-metiltransferasa que el alelo Met^{11,12}. Además, el alelo Val parece determinar mayores concentraciones de dopamina en las neuronas del cerebro medio¹³ y densidades disminuidas de materia gris en el cingulado anterior¹⁴. Estas diferencias funcionales entre una forma alélica y otra podrían traducir-

se en vulnerabilidades diferentes para la esquizofrenia, en la que, sin duda, parece haber una disfunción general e inespecífica de la vía de neurotransmisión dopaminérgica.

Estudios en familias han descrito una transmisión diferencial del alelo de alta actividad Val en individuos con esquizofrenia; sin embargo, los estudios caso-control han aportado en general resultados poco concluyentes acerca del efecto aislado de este gen en la etiología del trastorno^{15,16}. En este sentido, el estudio de Caspi et al⁸ aporta hallazgos reveladores porque demuestran, por primera vez, la interacción genético-ambiental (gen *COMT* y consumo de cannabis) en la causalidad de las psicosis. El efecto único del gen no es muy grande, pero en combinación con un factor ambiental estresante se incrementa significativamente.

Aunque todavía no hay replicaciones de estos hallazgos sobre muestras poblacionales, hay 3 trabajos cuyos resultados irían a favor de los de Caspi et al⁸, y al menos uno que no apoyaría dichos resultados. El primero de los trabajos a favor del de Caspi et al es un estudio de sólo casos que incluía 223 primeros episodios psicóticos. En él, Di Forti et al¹⁷ concluían que el efecto del cannabis en la aparición de psicosis estaba moderado por el polimorfismo Val158Met del gen *COMT*, y que los homocigotos Val/Val, que además habían consumido cannabis, tenían más riesgo para desarrollar un trastorno psicótico en el futuro. El segundo estudio corresponde a un diseño experimental en el que se administraba THC (el principal componente psicoactivo del cannabis) o placebo a individuos voluntarios¹⁸. En este trabajo se observó que los individuos homocigotos Val/Val eran más sensibles al efecto del THC y tenían una mayor probabilidad de manifestar síntomas psicóticos tras su administración que los individuos con otros genotipos. En relación con estos resultados, un estudio independiente desarrollado por el mismo equipo investigador describe un riesgo incrementado de alucinaciones tras consumir cannabis en pacientes psicóticos portadores del alelo Val del polimorfismo Val-158Met¹⁹. Todos estos hallazgos, que aun procediendo de estudios con diseños heterogéneos parecen apoyar la interacción gen *COMT* y consumo de cannabis en la etiología de la esquizofrenia, contrastan, sin embargo, con los descritos por Zammit et al²⁰, quienes no encuentran evidencias de tal interacción en un reciente estudio de sólo casos con esquizofrenia.

Dada la potencial trascendencia de los hallazgos descritos y la escasez de datos hasta el momento, en el presente estudio nos marcamos como objetivo explorar, sobre una muestra española de pacientes con esquizofrenia y controles, la posible interacción entre consumo de cannabis, variabilidad del gen *COMT* y riesgo para esquizofrenia.

Muestra y métodos

Muestra

La muestra incluida en este estudio estaba constituida por 283 individuos, de los que 91 (66 varones y 25 mujeres) eran pacientes con diagnóstico DSM-IV de esquizofrenia y 192 (96 varones y 96 mujeres) eran individuos sanos, no emparentados entre sí y del mismo origen poblacional que los enfermos. Los pacientes fueron reclutados en unidades de agu-

dos de 2 hospitales españoles (Sant Joan de Déu-Serveis de Salut Mental, Barcelona y Hospital Universitario San Cecilio, Granada). Los controles procedían de centros de atención primaria de Andalucía que acudían consecutivamente a consulta con su médico de cabecera y que accedieron a dar una muestra genética. Todos los participantes firmaron su consentimiento informado para formar parte del estudio; previamente, los comités de ética de los respectivos hospitales habían aprobado los protocolos.

Estado de paciente o control

Los pacientes habían recibido un diagnóstico clínico de esquizofrenia. Éste fue confirmado, siguiendo criterios DSM-IV para esquizofrenia, por psiquiatras clínicos experimentados independientes. Posteriormente, se evaluó la sintomatología mediante la versión española de la escala Positive and Negative Symptoms of Schizophrenia (PANSS)²¹. Por su parte, los controles, procedentes de atención primaria, fueron valorados con la versión española del General Health Questionnaire de 28 ítems (GHQ-28)²² y su estado carente de enfermedad fue confirmado cuando su puntuación en esta escala de cribado para trastorno mental fue menor que el punto de corte más restrictivo (2/3).

Factores ambientales

Se recogieron datos sociodemográficos, incluidos sexo, edad, estado civil y nivel educacional. Por otra parte, se preguntó, tanto a los pacientes como los controles, sobre sus hábitos actuales de consumo de cannabis para aclarar si eran consumidores habituales de dicha sustancia. Se consideró que el consumo era habitual cuando su uso era de al menos una vez por semana durante, como mínimo, 2 semanas en el último mes. Las preguntas relativas a la edad de inicio del consumo de cannabis fueron introducidas en el protocolo de trabajo una vez iniciado el muestreo y sólo se dispone de esa información para una pequeña parte de la muestra. Por ese motivo, la edad de inicio de consumo no es una variable que podamos tener en cuenta en nuestros análisis.

Análisis genéticos

Tras dar su consentimiento informado, tanto pacientes como controles donaron una muestra biológica de sangre o saliva (en los casos en que dichos sujetos prefirieron esa forma de obtención de la muestra). El polimorfismo Val-158Met del gen *COMT* se analizó en el total de la muestra mediante tecnología TaqMan. Los oligonucleótidos molde, así como la sonda utilizada en dicho análisis, fueron diseñados utilizando el software Primer Express 2.0 (ABI, Foster City, California). Las secuencias de ADN fueron obtenidas mediante GenBank. La discriminación alélica se llevó a cabo con una máquina TaqMan 7900. Se identificaron 4 tipo de señales en forma de *clusters* gracias al software SDS 1.7 (ABI, Foster City, California). Estos *clusters* correspondían a los homocigotos Val/Val, homocigotos Met/Met, heterocigotos Val/Met y controles negativos. La validez de cada grupo genotípico o *cluster* se confirmó mediante la secuenciación de 3 muestras de cada grupo tomadas aleatoriamente.

Análisis estadísticos

Se analizó el equilibrio Hardy Weinberg para las frecuencias genotípicas, tanto en pacientes como controles, mediante la prueba de la χ^2 (paquete estadístico EPI Info VI y SPSS v.12.0). Este mismo test estadístico se utilizó para comparar la distribución de consumidores y no consumidores de cannabis, y las frecuencias alélicas y genotípicas, entre grupos de esquizofrénicos y controles. Se aplicaron modelos de regresión logística para controlar perfiles de riesgo genético y/o ambiental concretos, definidos a priori, para la esquizofrenia. Dichos modelos de regresión logística se usaron para ajustar las asociaciones e interacciones por posibles factores confusores, tales como el sexo y la edad. Se estimaron también las asociaciones (*odds ratio* [OR], con intervalos de confianza [IC] del 95%) entre la enfermedad, el consumo de cannabis y las variantes genéticas analizadas.

Resultados

Consumo de cannabis y esquizofrenia

Se encontró que el consumo de cannabis tenía una firme relación con la condición de enfermo. Así, el uso de esta sustancia fue significativamente más frecuente en casos con esquizofrenia que en controles ($\chi^2 = 62,812$; $p < 0,0001$) (tabla 1). Esta relación se mantuvo cuando se analizó el consumo de cannabis en función del sexo. Aunque en nuestra muestra las mujeres fumaban menos cannabis que los varones, en el grupo femenino también se observó un mayor consumo entre las mujeres que presentaban la enfermedad que entre aquellas que no la tenían ($\chi^2 = 7,36$; $p = 0,006$; OR = 3,831; IC del 95%, 1,392-10,542). En el caso de los varones esta asociación entre consumo de cannabis y esquizofrenia se incrementaba ($\chi^2 = 49,7$; $p = 0,0001$; OR = 14; IC del 95%, 6,29-31,162).

Gen COMT y esquizofrenia

Las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val158Met del gen *COMT* estaban en equilibrio Hardy Weinberg tanto en casos como controles.

El análisis de asociación genética entre dicho gen y la esquizofrenia desveló que no había diferencias estadísticamente significativas en la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas cuando se comparaba a enfermos y controles (tabla 2), aunque la proporción de individuos portadores en homocigosis del alelo Val tenía que ser mayor en el grupo de casos (el 34 frente al 27%; $\chi^2 = 1,45$; $p = 0,228$; OR = 1,39; IC del 95%, 0,78-2,47). Tampoco se encontraron diferencias cuando se hicieron los análisis estratificados en función del sexo. Tanto en casos como en controles la distribución de alelos y genotipos fue similar en varones y mujeres. De nuevo, aunque no se llegaba a la significación estadística, en ambos casos se observó una mayor proporción de genotipos Val/Val en enfermos que en controles (datos no mostrados).

Esquizofrenia, gen *COMT* y consumo de cannabis

Se encontró que el consumo de cannabis era independiente del genotipo para el polimorfismo Val158Met del gen *COMT*

Tabla 1 Consumo de cannabis en pacientes con esquizofrenia y controles

	Consumo de cannabis	
	Sí	No
Enfermos	51 (58,6%)	36 (41,4%)
Controles	25 (13%)	167 (87%)

$\chi^2 = 62,812$; gl = 1; $p < 0,001$.

Odds ratio = 9,463 (intervalo de confianza del 95%, 5,199-17,225).

Tabla 2 Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Val158Met del gen *COMT* en casos y controles

	Controles	Casos
Frecuencias alélicas		
Met	182 (47%)	75 (41%)
Val	202 (53%)	107 (59%)
$\chi^2 = 1,907$; gdl = 1; $p = 0,167$		
Frecuencias genotípicas		
Met/Met	42 (22%)	15 (16%)
Met/Val	98 (51%)	45 (50%)
Val/Val	52 (27%)	31 (34%)
$\chi^2 = 1,948$; gdl = 2; $p = 0,378$		

tanto en casos ($\chi^2 = 1,146$; gl = 2; $p = 0,564$) como en controles ($\chi^2 = 1,676$; gl = 2; $p = 0,433$). Cuando se analizó la posible interacción de la variabilidad del gen *COMT* con el consumo de cannabis y el riesgo de esquizofrenia que estos dos factores conferían de forma conjunta, no se detectaron efectos significativos generales al comparar casos y controles. Sin embargo, cuando los datos fueron analizados en función del sexo, encontramos que el máximo riesgo de esquizofrenia correspondía a las mujeres que consumían habitualmente cannabis y que además eran homocigotas para el alelo Val. En el caso de mujeres consumidoras de cannabis heterocigotas Val/Met se obtenía un riesgo intermedio para la esquizofrenia y, finalmente, las mujeres consumidoras de cannabis homocigotas Met/Met eran las que presentaban el riesgo menor para dicha enfermedad (fig. 1). Sin embargo, este patrón dependiente de la dosis entre número de alelos Val, consumo de cannabis y riesgo para esquizofrenia en mujeres no llegó a alcanzar la significación estadística ($p = 0,152$).

Discusión

El consumo continuado y/o el abuso de cannabis se ha asociado consistentemente con un riesgo incrementado para desarrollar síntomas psicóticos y/o esquizofrenia^{1,23}. Este

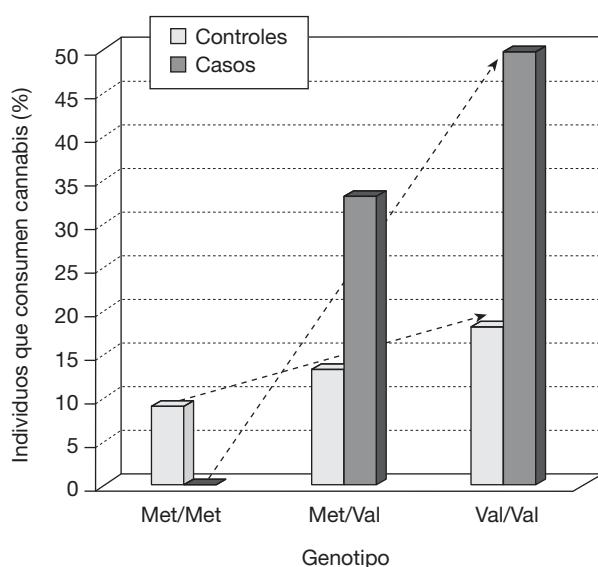


Figura 1 Mujeres consumidoras de cannabis en función del genotipo Val158Met del gen *COMT*.

riesgo podría ser mayor en individuos genéticamente vulnerables. Concretamente, hallazgos recientes del grupo de Caspi et al⁸ indican que el consumo de cannabis durante la adolescencia aumentaría por 5 el riesgo para esquizofrenia en individuos homocigotos Val/Val para el polimorfismo Val158Met del gen *COMT*. Este incremento de riesgo no se observa en personas con el mismo genotipo pero que no han consumido antes cannabis⁸.

El gen *COMT* codifica para la catecol-O-metiltransferasa, una enzima clave de la neurotransmisión dopamínérgica, y el polimorfismo Val158Met, en concreto, es un polimorfismo funcional que afecta a la actividad transcripcional del gen y, en consecuencia, a la eficacia con que la dopamina es metabolizada en la corteza prefrontal¹². Clásicamente, se ha considerado que el gen *COMT* es candidato para esquizofrenia y, dentro de este gen, se ha estudiado ampliamente el polimorfismo funcional Val158Met en relación con el origen de dicha enfermedad. Sin embargo, los resultados de los estudios de asociación genética, en general, no han sido concluyentes. Dos recientes metaanálisis encuentran evidencias mínimas, o no las encuentran, de asociación entre el polimorfismo Val158Met del gen *COMT* y la esquizofrenia^{24,25}. Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, parece plausible que, más que un efecto mayor, el gen *COMT* podría tener un papel modulador del efecto de determinados factores de riesgo ambiental para esquizofrenia como, por ejemplo, el consumo de cannabis. Esta hipótesis, apoyada por el estudio de Caspi et al⁸, no ha sido replicada hasta el momento en una muestra independiente, si bien hay 3 trabajos que, de forma indirecta, muestran resultados favorables¹⁷⁻¹⁹.

En el presente estudio nos propusimos como principal objetivo explorar, en una muestra española, la posible interacción de estos dos factores (consumo de cannabis y variabilidad del gen *COMT*) y su papel en el riesgo de esquizofrenia. En primer lugar, tal y como habían descrito

otros autores^{3,7}, nuestros resultados mostraron una firme asociación entre consumo de cannabis y esquizofrenia. Esta asociación se observó tanto en el grupo de varones como en el de mujeres, si bien en los primeros la magnitud del efecto era significativamente mayor que en estas últimas. Ciertamente, nuestro estudio está basado en un diseño transversal, en el que no es posible establecer relaciones causa-efecto y, por lo tanto, sólo podemos afirmar que, en nuestra muestra, el consumo de cannabis es significativamente más frecuente entre aquellos que padecen la enfermedad que entre aquellos que no la padecen, sin poder determinar si el consumo es previo a su manifestación o se estableció posteriormente.

Respecto al posible papel del gen *COMT* en la causalidad de la esquizofrenia, nuestros resultados no parecen apoyar que la variabilidad analizada en dicho gen tenga relación con un riesgo diferencial para esa enfermedad, aunque tanto en el análisis general como en el estratificado por sexos encontramos una tendencia no significativa hacia un incremento de homocigotos para el alelo Val (Valina) entre los enfermos al compararlos con los controles. Es probable que, de conservarse esas tendencias en una muestra mayor, los resultados pudieran alcanzar la significación estadística. Sin embargo, teniendo en cuenta los datos de los que disponemos en la actualidad, la frecuencia en la población no enferma de los genotipos de riesgo y el tamaño de nuestra muestra, estimamos que contamos con un poder del 80% (IC del 95%) de detectar un riesgo mínimo de 2,2 en el caso de que se considere como genotipo de riesgo el homocigoto Val/Val, o de 3,2 en el caso de que consideremos como genotipos de riesgo las combinaciones Val/Met y Val/Val. Se trata en ambos casos de riesgos de cierta magnitud, probablemente por encima de los esperados para el gen *COMT*. Para detectar efectos menores necesitaríamos una muestra sensiblemente mayor y, en ese sentido, nuestro poder muestral actual es limitado.

Por último, y en relación con el incremento de riesgo para esquizofrenia que podría propiciar la interacción entre el consumo de cannabis y la variabilidad del gen *COMT*, en nuestro estudio encontramos evidencias que apoyarían esta interacción sólo en el grupo de mujeres y no en el de varones. Estas tendencias no llegan a ser estadísticamente significativas, posiblemente por una falta de poder muestral. Sin embargo, van en la misma dirección que los hallazgos de Caspi et al⁸ y deberían ser exploradas en mayor profundidad en una muestra mayor. Nuevos estudios en este sentido deberían desarrollarse, idealmente en el contexto de diseños longitudinales, para esclarecer, por un lado, el papel modulador del gen *COMT* en el riesgo del cannabis para la esquizofrenia y, por otro, la magnitud de ese efecto.

Financiación

Este estudio ha sido posible gracias a la financiación de la Fundació la Marató de TV3 (TV32001-36), el Ministerio de Educación y Ciencia (proyecto SAF-2004-01310) y la Consejería de Innovación (Junta de Andalucía), Proyecto de Investigación de Excelencia P06-CTS-01686.

Bibliografía

1. Murray RM, Morrison PD, Henquet C, Di Forti M. Science and society - Cannabis, the mind and society: the hash realities. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8:885-95.
2. Henquet C, Krabbendam L, Spauwen J, et al. Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *BMJ.* 2005;330:11-4.
3. Moore THM, Zammit S, Lingford-Hughes A, et al. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet.* 2007;370:319-28.
4. Arseneault L, Cannon M, Poulton R, Murray R, Caspi A, Moffitt TE. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ.* 2002;325:1212-3.
5. Fergusson DM, Horwood LJ, Swain-Campbell NR. Cannabis dependence and psychotic symptoms in young people. *Psychol Med.* 2003;33:15-21.
6. Henquet C, Di FM, Morrison P, Kuepper R, Murray RM. Gene-environment interplay between cannabis and psychosis. *Schizophr Bull.* 2008;34:1111-21.
7. Veling W, Mackenbach JP, Van OJ, Hoek HW. Cannabis use and genetic predisposition for schizophrenia: a case-control study. *Psychol Med.* 2008;38:1251-6.
8. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, et al. 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. *Biological Psychiatry.* 2005;57:1117-27.
9. Allen NC, Bagade S, McQueen MB, et al. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet.* 2008;40:827-34.
10. Murphy KC, Jones LA, Owen MJ. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry.* 1999;56:940-5.
11. 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;6:243-50.
12. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, et al. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase - A revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry.* 1995;34:4202-10.
13. Meyer-Lindenberg A, Nichols T, Callicott JH, et al. Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. *Mol Psychiatry.* 2006;11:867-77.
14. Lawrie SM, Hall J, McIntosh AM, Cunningham-Owens DG, Johnstone EC. Neuroimaging and molecular genetics of schizophrenia: pathophysiological advances and therapeutic potential. *Br J Pharmacol.* 2008;153:S120-4.
15. Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT. Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: Meta-analysis of case-control and family-based studies. *Am J Psychiatry.* 2003;160:469-76.
16. Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC. The molecular genetics of schizophrenia: findings promise new insights. *Mol Psychiatry.* 2004;9:14-27.
17. Di Forti M, LaCascia C, Butt A, et al. Gene X cannabis interaction: Case-only design analysis in a first-episode psychosis sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006;141B:796.
18. Henquet C, Rosa A, Krabbendam L, et al. An experimental study of catechol-O-methyltransferase Val(158)Met moderation of Delta-9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology.* 2006;31:2748-57.
19. Henquet C, Rosa A, Delespaul P, et al. COMT ValMet moderation of cannabis-induced psychosis: a momentary assessment study of 'switching on' hallucinations in the flow of daily life. *Acta Psychiatr Scand.* 2009;119:156-60.
20. Zammit S, Spurlock G, Williams H, et al. Genotype effects of CHRNA7, CNR1 and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and cannabis use. *Br J Psychiatry.* 2007;191:402-7.
21. Peralta V, Cuesta MJ. Psychometric properties of the positive and negative syndrome scale (PANSS) in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1994;53:31-40.
22. Lobo A, Perez-Echeverria MJ, Artal J. Validity of the scaled version of the General Health Questionnaire (GHQ-28) in a Spanish population. *Psychol Med.* 1986;16:135-40.
23. Van Os J, Rutten BP, Poulton R. Gene-environment interactions in schizophrenia: review of epidemiological findings and future directions. *Schizophr Bull.* 2008;34:1066-82.
24. Fan JB, Zhang CS, Gu NF, et al. Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol Psychiatry.* 2005;57:139-44.
25. Munafó MR, Bowes L, Clark TG, Flint J. Lack of association of the COMT (Val158/108 Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case-control studies. *Mol Psychiatry.* 2005;10:765-70.