

Polimorfismos genéticos en la catecol-O-metiltransferasa y riesgo de esquizofrenia en población española

Sergi Mas^a, Patricia Gassó^a, Anna Crescenti^a, Eduard Parellada^b, Miquel Bernardo^b y Amalia Lafuente^a

^aDepartamento de Anatomía Patológica, Farmacología y Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. IDIBAPS. Barcelona.

^bServicio de Psiquiatría. Hospital Clínico Universitario de Barcelona. Barcelona. España.



FUNDAMENTO Y OBJETIVO: Uno de los genes susceptibles de ser considerado candidato para los estudios de asociación con esquizofrenia es, a priori, el de la catecol-O-metiltransferasa (COMT). La variante genética más estudiada (G158A o rs4680) es funcional. Además, se ha propuesto que las variantes genéticas que afectan al promotor P2 podrían producir cambios en los valores de COMT en el cerebro. Recientemente, se ha relacionado una variante en este promotor (-278A/G o rs1800706) con los trastornos psicóticos. El objetivo de este trabajo es estudiar si polimorfismos genéticos del gen *COMT* (G158A) y su promotor (-278A/G) influyen en la susceptibilidad a la esquizofrenia en la población española.

PACIENTES Y MÉTODO: Participaron en este estudio de asociación 243 pacientes diagnosticados de esquizofrenia y trastornos relacionados según los criterios del DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, cuarta edición) y 291 sujetos de un grupo control de base hospitalaria.

RESULTADOS: No se encontraron diferencias significativas entre casos y controles para las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados, ni tampoco cuando se analizaron los genotipos del polimorfismo *COMT* G158A. Sin embargo, los individuos heterocigotos para el polimorfismo *COMT* -278A/G presentaban una reducción del 60% en el riesgo de presentar esquizofrenia (odds ratio = 0,4, intervalo de confianza del 95%, 0,2-0,8, p = 0,009).

CONCLUSIONES: Los datos de este estudio exploratorio están de acuerdo con resultados recientes en este campo, que indican una menor influencia del polimorfismo clásico *COMT* G158A en el riesgo de esquizofrenia y una mayor importancia de los polimorfismos que afectan al promotor P2 del gen, como -278A/G.

Palabras clave: Catecol-O-metiltransferasa. Esquizofrenia. Farmacogenética. Polimorfismo genético. España.

Effect of polymorphisms of the catechol-O-methyltransferase on schizophrenia risk in a Spanish population

BACKGROUND AND OBJECTIVE: *Catechol-O-methyl transferase (COMT)* is one of the most plausible susceptibility genes of schizophrenia risk. The main genetic variant (G158A or rs4680) studied is functional. It has been shown that G-A transition at *COMT* codon 158 makes *COMT* more thermolabile and less active at physiological temperature. Genetic variants in the P2 promoter have been suggested to cause alterations in brain *COMT* protein levels. A variant in the P2 promoter (-278A/G or rs1800706) has recently been associated with psychotic disorders. We studied whether polymorphisms in *COMT* (G158A, -278A/G) are risk factors for schizophrenia in a Spanish population.

PATIENTS AND METHOD: 243 subjects diagnosed of schizophrenia and related disorders following the DSM-IV criteria and 291 hospital-based controls participated in an association study.

RESULTS: The heterozygotes for the *COMT* -278A/G polymorphism showed a 60% reduction in the schizophrenia risk (p = 0.009). No significant differences were observed between the other *COMT* genotypes or haplotypes in cases and controls.

CONCLUSIONS: Our results suggest that the *COMT* -278A/G polymorphism may have a role in schizophrenia. The results are in agreement with recent findings in this field that indicate a minor influence of *COMT* G158A on schizophrenia risk and a greater importance of polymorphisms in the P2 promoter regions of *COMT*, such as -278A/G.

Key words: Catechol-O-methyl transferase. Schizophrenia. Pharmacogenetics. Genetic polymorphisms. Spain.

Este trabajo ha podido realizarse gracias a la financiación recibida del Ministerio de Salud, Instituto de Salud Carlos III (RETICS, Red de Enfermedades Mentales REM-TAP NetworkRD06/0011/06-05; CIBER CB07/09/005; FIS P1060182U-2006) y del Departamento de Innovación, Universidad y Empresa de la Generalitat de Catalunya (DURSI, GRC2005SGR00039, GRC20055GR00223).

Correspondencia: Dra. A. Lafuente.
Departamento de Anatomía Patológica, Farmacología y Microbiología.
Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. IDIBAPS.
Casanova, 143. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: amalialafuente@ub.edu

Recibido el 8-4-2008; aceptado para su publicación el 17-6-2008.

El gen de la catecol-O-metiltransferasa (*COMT*) es uno de los genes susceptibles de ser considerado candidato para los estudios de riesgo de esquizofrenia, principalmente por su papel clave en el metabolismo de las monoaminas, especialmente en las neuronas dopaminérgicas del lóbulo prefrontal. Según la teoría dopaminérgica de la esquizofrenia, la sintomatología de este trastorno se debe a la hiperactividad de las vías dopaminérgicas centrales¹. Deficiencias en el metabolismo de este neurotransmisor, por ejemplo, causadas por variantes genéticas en *COMT*, podrían dar lugar a la acumulación de dopamina. En apoyo a esta hipótesis, estudios de ligamiento genético han identificado la región cromosómica 22q11, donde se localiza la *COMT*, como uno de los *loci* con mayor probabilidad de contener genes implicados en la susceptibilidad a la esquizofrenia². La variante genética más estudiada (G158A o rs4680) es funcional. Se ha descrito que la transición de guanina a alanina en el codón 158 del gen de la *COMT* produce una sustitución de valina por metionina en la proteína. Esta sustitución hace a la *COMT* más termolábil y, por tanto, menos activa a temperatura fisiológica³. Esta funcionalidad ha llevado a una intensa investigación del papel de este polimorfismo genético en el riesgo de esquizofrenia. De acuerdo con la teoría hiperdopaminérgica de la esquizofrenia, se esperaría encontrar mayor frecuencia del alelo 158A (alelo de baja actividad) en los pacientes con este trastorno, ya que tendrían mayores dificultades para metabolizar la dopamina. Sin embargo, la mayoría de los estudios han generado resultados contradictorios⁴⁻⁷.

El gen de la *COMT* se transcribe a partir de dos promotores (P1 y P2), lo que resulta en una forma soluble citoplasmática (S-*COMT*, transcrita desde P1) y una forma anclada a la membrana celular (MB-*COMT*, transcrita desde P2)⁸. Aunque ambas formas se expresan en una variedad de tejidos, MB-*COMT* parece ser la forma predominante en el cerebro⁹. Por esta razón se ha propuesto que las va-

TABLA 1

Características de los controles (grupo control de base hospitalaria) y los casos (pacientes con esquizofrenia o trastornos relacionados), y su diagnóstico

	Grupo control de base hospitalaria (n = 291)	Pacientes con esquizofrenia o trastornos relacionados (n = 243)
Edad, media (DE), años	61,7 (11)	34,05 (13) ^a
Varones	112/291 (38,4%)	132/243 (54,3%) ^a
Fumadores ^b	63/291 (21,6%)	90/181 (49,72%) ^a
Diagnósticos		
Esquizofrenia		160 (65,8%)
Trastorno esquizoafectivo		30 (12,4%)
Trastorno psicótico agudo		39 (16,1%)
Trastorno de ideas delirantes		11 (4,5%)
Trastorno esquizotípico		3 (1,2%)

^ap < 0,001 (frente a controles).

^bNo se incluye a exfumadores. No se dispuso de información sobre el tabaquismo de algunos pacientes (62 casos perdidos).

riantes genéticas que afectan al P2 podrían producir cambios en los valores de COMT en el cerebro, mediante la estimulación o la inhibición de la transcripción¹⁰. Recientemente, se ha relacionado una variante en este promotor (-278A/G o rs1800706) con los trastornos psicóticos⁶.

El objetivo de este trabajo es determinar la influencia de los polimorfismos genéticos del gen COMT (G158A) y su promotor (-278A/G) en la susceptibilidad a la esquizofrenia en la población española.

Pacientes y método

Los cálculos para determinar el tamaño de la muestra se basaron en las frecuencias genotípicas publicadas en estudios previos con población caucásica. Los cálculos asumen un nivel de significación del 5%, un poder estadístico del 80% y detectar valores de odds ratio (OR) ≥ 2.

Pacientes

Para participar en este estudio se reclutó a 243 pacientes diagnosticados de esquizofrenia y trastornos relacionados según los criterios del DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, cuarta edición)¹¹, durante el período 2002-2004 en el Servicio de Psiquiatría del Hospital Clínico de Barcelona, España.

Se utilizó un grupo control de base hospitalaria (n = 291) que se reclutó consecutivamente en el Servicio de Traumatología del Hospital Clínico de Barcelona durante el período 1996-1997. Esta población ha sido utilizada en otros estudios genéticos¹², incluso en estudios de riesgo de esquizofrenia¹³. La mayoría de estos controles fueron ingresados en el servicio de traumatología por prótesis de rodilla o cadera, o bien por fractura de pelvis, o lesiones en las articulaciones superiores o inferiores. Cada paciente contestó un cuestionario, con un entrevistador previamente entrenado, que recogía información demográfica, ocupacional, tabaquismo e historia médica. La información médica obtenida se contrastó con la historia clínica. Se excluía del estudio a los controles si presentaban

historial de enfermedad maligna o enfermedad psiquiátrica.

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes del estudio, juntamente con una muestra de sangre. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Clínic.

Análisis de genotipos

EL ADN se aisló a partir de 300 µl de sangre entera utilizando técnicas estándar.

- Polimorfismo G158A: mediante técnicas de PCR-RFLP (*polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*) previamente descritas, un fragmento de 237 pb que contenía el polimorfismo se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los oligonucleótidos; 5'-TACTGTGGC-TACTCAGCTGTGC y 5'-GTGAACGTGGTGGAACACC¹⁴. Los distintos alelos se identificaron por digestión enzimática con 10 U de la enzima de restricción NlaIII (New England Biolabs, Ipswich, MA).

- Polimorfismo -278A/G: mediante técnicas de PCR-RFLP previamente descritas¹⁵. La PCR se realizó con los oligonucleótidos 5'-TAGTAACAGACTGGGACGAA y 5'-GTTCAAGGGCATTATCATG, y la digestión enzimática con 1 U de la enzima de restricción HindIII (New England Biolabs).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el *software* del paquete estadístico SPSS 14.05 (SPSS Inc., Chicago, IL, Estados Unidos). Se calcularon las medias y desviaciones estándar para las variables continuas. Mediante análisis univariante (prueba de la χ^2 para variables categóricas y prueba de la t de Student para variables continuas) se identificaron los factores sociodemográficos relacionados con la esquizofrenia. El análisis multivariable (regresión logística múltiple) se usó para estimar la contribución independiente de cada uno de los factores identificados en el análisis univariante. Para los valores ajustados de OR se calcularon los intervalos de confianza asociados (IC del 95%). Para la corrección por múltiples comparaciones se utilizó la corrección de Bonferroni en los resultados del análisis de alelos y genotipos. Esta corrección se utilizó considerando que se analizaban dos polimorfismos en un único locus. Considerando esta corrección, los valores p < 0,025 se consideraron estadísticamente significativos. El análisis de equilibrio de

Hardy-Weinberg y de las relaciones de desequilibrio de ligamiento (DL) entre polimorfismos se realizó con el paquete Genetics del *software* estadístico R (versión 2.4.0). Se utilizó el algoritmo EM para inferir los haplotipos y los tests de homogeneidad de probabilidades para comparar su distribución mediante el *software* UNPHASED 3.07¹⁶. La significación obtenida para el mejor resultado de cada análisis con haplotipos se corrigió por múltiples comparaciones mediante ciclos de 10.000 permutaciones.

Resultados

En la tabla 1 se muestran las características de los controles (grupo de base hospitalaria) y los casos (pacientes con esquizofrenia o trastornos relacionados), así como el diagnóstico de éstos. Debido a la diferencia de edad entre casos y controles, fue necesario asegurarnos de que los genotipos estudiados no tenían relación con la edad de los pacientes. Como puede verse en la tabla 2, no hay diferencias significativas en la distribución de los alelos en los distintos subgrupos por edad del grupo control. Sin embargo, igualmente se decidió ajustar el análisis estadístico por esta variable. Además, considerando las diferencias en la distribución de sexos y hábito tabáquico entre casos y controles, también se decidió ajustar el análisis por ambas variables. El 33,2% de los pacientes del grupo de casos tenía historial de abuso de drogas, la más común era el cannabis (18,8%), seguido del alcohol (4,8%) y la cocaína (3,2%). No se dispuso de información sobre el consumo de sustancias de abuso en el grupo control, por lo que no se pudo estudiar la influencia de los hábitos tóxicos (diferentes del tabaco) en el riesgo de desarrollar esquizofrenia.

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos genéticos estudiados se presentan en la tabla 3. Los polimorfismos estudiados estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg en ambas poblaciones, casos y controles (COMT G158A: casos, $\chi^2 = 0,82$, p > 0,05; controles, $\chi^2 = 0,03$, p > 0,05; COMT -278A/G: casos $\chi^2 = 2,96$, p > 0,05; controles, $\chi^2 = 0,5$, p > 0,05). No se observó relación de DL entre los marcadores (casos, D' = 0,39; controles, D' = 0,28).

Para explorar la posible relación entre los alelos estudiados y la susceptibilidad a la esquizofrenia se utilizó el análisis multivariable ajustado por las variables comentadas anteriormente (edad, sexo y tabaquismo) (tabla 3) y se calculó el riesgo relacionado con los distintos genotipos y alelos. No se encontraron diferencias significativas entre casos y controles para las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados, ni tampoco cuando se analizaron los genotipos del polimorfismo COMT G158A. Sin embargo, los individuos heterocigotos para el polimorfismo COMT -278A/G presentaban una reducción del 60% en el riesgo de presentar

TABLA 2

Distribución de las frecuencias alélicas en los diferentes subgrupos por edad del grupo control

Alelo	31-50 años, n/N (%) ^a	51-70 años, n/N (%) ^a	71-100 años, n/N (%) ^a
COMT G158A	54/124 (44)	138/312 (44)	73/146 (49)
COMT -278A/G	50/124 (40)	117/312 (37)	58/146 (39)

^aPrueba de la χ^2 , p > 0,05.

esquizofrenia (OR = 0,4; IC del 95%, 0,2-0,8; p = 0,009).

A partir de los datos genotípicos de nuestra población pudimos inferir cuatro haplotipos (tabla 4). No se observaron diferencias significativas en la distribución de estos haplotipos entre casos y controles.

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio están de acuerdo con resultados recientes en este campo, que indican una menor influencia del polimorfismo clásico COMT G158A en el riesgo de esquizofrenia y una mayor importancia de los polimorfismos que afectan al promotor P2 del gen, como -278A/G.

A pesar de que numerosos estudios avallan la funcionalidad del polimorfismo COMT G158A¹⁷⁻¹⁹, el papel de este polimorfismo en la esquizofrenia es controvertido, en parte debido a la falta de replicación de los resultados positivos y a los resultados negativos obtenidos en los metaanálisis^{6,10,20,21}. De hecho, los valores de *odds ratio* obtenidos en los estudios con asociaciones positivas son bajos, lo que vendría a demostrar que el polimorfismo COMT G158A es insuficiente para explicar toda la variabilidad genética de COMT. En nuestro estudio, al igual que en otros estudios con población española²², el polimorfismo COMT G158A parece no tener ningún efecto en el riesgo de esquizofrenia. Probablemente se necesitan tamaños de muestra mayores para detectar la pequeña contribución de este polimorfismo en el riesgo general. Sin embargo, este polimorfismo funcional parece ser relevante para modular la respuesta farmacológica de los antipsicóticos; recientemente hemos relacionado el alelo 158A con una menor predisposición a desarrollar efectos adversos como el extrapiramidismo²³.

En cuanto al polimorfismo -278 A/G, recientemente, un haplotipo de tres marcadores se ha asociado con el riesgo de esquizofrenia y trastorno bipolar en una población de judíos ashkenaz²¹. Este haplotipo contiene el polimorfismo rs737865, muy próximo al promotor P2 y en completo DL con -278A/G (D' = 1; LOD = 2,84; r² = 0,098; International Hapmap Project data: <http://www.hapmap.org/index.html>). Estudios funcionales de este haplotipo han demostrado que reduce la expresión de COMT en el cerebro humano^{24,25}. Sin embargo, cuando se ha estudiado en otras poblaciones, se ha visto que hay una gran variabilidad en su distribución y en las relaciones de DL entre los tres marcadores del haplotipo. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la región promotora P2 en la expresión de COMT, así como el interés de identificar bloques haplotípicos

TABLA 3

Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas estudiadas en casos y controles, y análisis multivariable del riesgo de esquizofrenia asociado al alelo y los genotipos

	Controles n/N (%)	Casos n/N (%)	OR (IC del 95%)	p ^a
COMT G158A				
Homoz AA ^b	60/291 (20,6%)	47/243 (19,3%)	1,1 (0,6-2,2)	0,7
Heteroz GA ^b	146/291 (50,2%)	125/243 (51,4%)	1,2 (0,5-2,6)	0,7
Alelo 158A ^c	45,7%	45,0%	1,1 (0,7-1,6)	0,7
COMT -278A/G				
Homoz GG ^d	41/291 (14,1%)	48/243 (19,7%)	1,3 (0,6-2,8)	0,3
Heteroz AG ^d	144/291 (49,5%)	94/243 (38,7%)	0,4 (0,2-0,8)	0,009
Alelo -278G ^e	38,8%	39,1%	0,9 (0,6-1,4)	0,9

^aConsiderando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples, valores p < 0,025 se consideraron estadísticamente significativos.

^bRegresión logística multivariable del genotipo ajustada por edad, sexo y tabaquismo (grupo de referencia homocigoto GG).

^cRegresión logística multivariable del alelo A como variable continua (0 homocigoto GG; 1 heterocigoto AG; 2 homocigotos AA) ajustada por edad, sexo y tabaquismo.

^dRegresión logística multivariable del genotipo ajustada por edad, sexo y tabaquismo (grupo de referencia homocigoto AA).

^eRegresión logística multivariable del alelo G como variable continua (0 homocigoto AA; 1 heterocigoto AG; 2 homocigotos GG) ajustada por edad, sexo y tabaquismo.

IC: intervalo de confianza; OR: *odds ratio*.

en cada población. En nuestra población, no hemos hallado asociación entre ninguno de los dos alelos y el riesgo de sufrir esquizofrenia. Sin embargo, los individuos heterocigóticos reducen el riesgo de esquizofrenia en, aproximadamente, un 60%. Esta situación de ventaja del heterocigoto puede deberse a las diferencias de DL de ambos alelos con distintos polimorfismos funcionales que podrían llevar a alteraciones en la expresión de COMT más severas en heterocigosis que en homocigosis.

Cabe comentar la estructura del grupo control, un grupo de base hospitalaria reclutado en el servicio de traumatología. Dicho grupo presenta una mayor edad promedio y mayor número de mujeres que el grupo de casos. Estas diferencias pueden ser atribuidas a la mayor frecuencia de afecciones traumáticas en personas con edad avanzada y, especialmente, mujeres posmenopáusicas. Hay que señalar que nosotros no encontramos ninguna evidencia que indique que este grupo control está sesgado respecto al gen *COMT*. Para empezar, las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos estudiados en el grupo control reproducen las observadas en distintas poblaciones sanas europeas³ y, especialmente, en población española²¹. También es importante destacar que no se observó ninguna relación entre los geno-

tipos estudiados y la edad o el sexo en el grupo control. Finalmente, tampoco hay ninguna evidencia de que las enfermedades de los pacientes de traumatología estén relacionadas con la variabilidad genética de COMT o con la susceptibilidad a la esquizofrenia. Por lo tanto, concluimos que nuestro grupo control no está sesgado en términos de distribución de los genotipos *COMT*. Por otro lado, hay que tener en cuenta que la esquizofrenia es una enfermedad de aparición temprana; en este contexto, los controles de mayor edad son individuos con mayor resistencia para esta enfermedad, de manera que pueden considerarse como controles hipernormales. El uso de controles hipernormales es una estrategia de diseño de estudios de casos y controles que permite aumentar la eficiencia de estudios genéticos de asociación²⁶.

Los datos de este estudio exploratorio parecen indicar que el polimorfismo -278A/G, en la región promotora P2, tiene un papel más relevante que el polimorfismo COMT G158A en relación con el riesgo de esquizofrenia. Considerando la elevada variabilidad descrita entre los distintos grupos étnicos en cuanto a las relaciones de DL y la configuración de bloques haplotípicos en *COMT*, sería necesaria la identificación de los polimorfismos y los haplotipos causales de la asociación entre COMT y esquizofrenia en cada población.

TABLA 4

Distribución y frecuencia de los haplotipos COMT inferidos en el estudio

Alelos COMT		Frecuencia haplotípica		OR (IC del 95%)	p [*]
A-278G	G158A	Controles	Casos		
A	G	0,39	0,43	1 (1-1)	0,7
A	A	0,22	0,18	0,9 (0,2-3,3)	0,6
G	G	0,15	0,12	1,1 (0,4-3,2)	0,9
G	A	0,24	0,27	1,2 (0,6-2,8)	0,6

^{*}Prueba de homogeneidad de probabilidades ajustada por edad, sexo y tabaquismo. Cada valor de p se corrigió por múltiples comparaciones mediante ciclos de 10.000 permutaciones.

COMT: catecol-O-metiltransferasa; IC: intervalo de confianza; OR: *odds ratio*.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Esther Planas su ayuda en el reclutamiento de los pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003;160:1081-90.
- Badner JA, Gershon ES. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2002;7:405-11.
- Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I, 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.
- 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.
- Fan JB, Zhang CS, Gu NF, Li XW, Sun WW, Wang HY, 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.
- Funke B, Malhotra AK, Finn CT, Plocik AM, Lake SL, Lencz T, et al. COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Beh Brain Funct*. 2005;1:19-25.
- Munafò 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.
- Tenhunen J, Salminen M, Lunnström K, Kivi-Lohto T, Sacolainen R, Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol-o-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem*. 1994;223:1049-59.
- Reenila I, Mannisto PT. Catecholamine metabolism in the brain by membrane-bound soluble catechol-O-methyltransferase (COMT) estimated by enzyme kinetic values. *Med Hypotheses*. 2001;57:628-32.
- Palmatier MA, Pakstis AJ, Speed W, Paschou P, Goldman D, Odunsi A, et al. COMT haplotypes suggest P2 promoter region relevance for schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2004;9:859-70.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Method of Mental Disorders*. 4.^a ed. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994.
- Lafuente MJ, Casterad X, Trias M, Ascaso C, Molina R, Ballesta A, et al. NAD(P)(H):quinone oxidoreductase-dependent risk for colorectal cancer and its association with the presence of k-ras mutations in tumors. *Carcinogenesis*. 2000;21:1813-9.
- Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, et al. -141 C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia in a Spanish population. *Psychiatric Genet*. 2008 [en prensa].
- Mas S, Laso N, Lafuente MJ, Lafuente A, Molina R, Ballesta A, et al. Cancer, genes and catechol estrogen metabolites. *Int J Clin Oncol*. 2003;8:65-66.
- Norton N, Kirov G, Zammit S, Jones G, Jones S, Owen R, et al. Schizophrenia and functional polymorphisms in the MAOA and COMT genes: no evidence for association or epistasis. *Am J Med Genet*. 2002;114:491-6.
- Dudbridge F. *UNPHASED user guide*. Technical report 2006/5. Cambridge: MRC Biostatistics Unit; 2006.
- Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, et al. 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;75:807-21.
- Shield AJ, Thomaes BA, Eckloff BW, Wieben ED, Weinshilboum RM. Human catechol-o-methyltransferase genetic variations: gene resequencing and functional characterization of variant allozymes. *Mol Psychiatry*. 2004;9:151-60.
- Handoko HY, Nyholt DR, Hayward NK, Nertney DA, Hannah DE, Windus LC, et al. Separate and interacting effects within catechol-o-methyltransferase (COMT) are associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2005;10:588-97.
- DeMille MMC, Kidd JR, Ruggeri V, Palmatier MA, Goldman D, Odunsi A, et al. Population variation in linkage disequilibrium across the COMT gene considering promoter region and coding region variation. *Hum Genet*. 2002;111:521-37.
- Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisanté-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, et al. A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet*. 2002;71:1296-302.
- Diez-Martin J, Hoenicka J, Martínez I, Aragónes M, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero A, et al. Polimorfismo Val¹⁵⁸Met de COMT y esquizofrenia: estudio de asociación en una muestra de pacientes españoles. *Med Clin (Barc)*. 2007;128:41-4.
- Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, et al. Polymorphism of dopamine D2 receptor (Taq1A, Taq1B, and -141C Ins/Del) and dopamine degradation enzyme (COMT G158A, -278A/G) genes and extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 2007 (doi:10.1016/j.psychres.2007.08.002).
- Bray NJ, Buckland PR, Williams NM, Williams HJ, Norton N, Owen MJ, et al. A haplotype implicated in schizophrenia susceptibility is associated with reduced COMT expression in human brain. *Am J Hum Genet*. 2003;73:152-61.
- 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.
- Morton NE, Collins A. Tests and estimates of allelic association in complex inheritance. *PNAS*. 1998;95:11389-93.