



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS PSIQUIÁTRICOS

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2022

Autor: Isabel Castejón Grao

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Daniela Vanesa Navarro y Jorge Manzanares Robles (cotutor)

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. ABREVIATURAS	3
3. INTRODUCCIÓN (antecedentes y justificación)	4
3.1. CONTEXTO ACTUAL DE LAS ENFERMEDADES MENTALES	4
3.2. BIOMARCADORES EN PSIQUIATRÍA.....	5
3.3. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE	7
4. OBJETIVO	10
5. MATERIAL Y MÉTODOS	10
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
6.1. TRASTORNOS PSIQUIÁTRICOS Y NEUROLÓGICOS.....	11
6.1.1. TRASTORNOS EMOCIONALES.....	11
6.1.1.1. Trastornos de Ansiedad	11
6.1.1.2. Trastornos depresivos.....	18
6.1.2. ESQUIZOFRENIA	24
7. CONCLUSIONES	30
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1. RESUMEN

Las enfermedades mentales suponen un problema mundial debido a sus altas tasas de prevalencia, morbilidad, mortalidad y discapacidad, sumado a la heterogeneidad de sus síntomas y limitadas opciones de tratamiento. Se ha demostrado en diversos estudios la implicación del Sistema endocannabinoide (SEC) en la etiología y neuropatología de los trastornos psiquiátricos, con lo que se ha puesto en el punto de mira la investigación de las alteraciones en sus componentes como posibles biomarcadores en el diagnóstico y tratamiento de estos trastornos. En este trabajo, se han revisado las evidencias más relevantes, tanto a nivel preclínico como a nivel clínico, en cuanto a los receptores cannabinoides, los cannabinoides endógenos (CE) y sus enzimas metabolizadoras, y su modulación mediante bloqueo o activación farmacológica y delección o sobreexpresión genética. Los resultados de la búsqueda indican que esta modulación consigue mejorar o empeorar los síntomas de los trastornos ansiedad, los trastornos depresivos y la esquizofrenia y, buscando una mejora, se hace innegable la oportunidad que brinda el SEC como biomacador potencial de estos trastornos psiquiátricos.

2. ABREVIATURAS

2-AG, 2-araquidonilglicerol; ABL, amígdala basolateral; AEA, N-araquidoniletanolamina; AVAD, años de vida ajustados por discapacidad; AVD, años vividos con discapacidad; CE, cannabinoides endógenos; CPF, corteza prefrontal; DAGL, diacilglicerol lipasa; DSM-V, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th edition (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales 5^a edición); FAAH, fatty acid amide hydrolase (amida hidrolasa de ácidos grasos); FLD-NAFE, fosfolipasa D específica de N-acilfosfatidiletanolamina; FNDC, factor neurotrófico derivado del cerebro; HHS, hipotálamo-hipófisis-suprarrenal; HINT-1, histidine triad nucleotide binding protein 1 (proteína 1 de unión a nucleótidos de la tríada histidina); IPP, inhibición previa al pulso; LCR, líquido cefalorraquídeo; MAGL, enzima monoacilglicerol lipasa; NMDA, N-metil-D-aspartato de glutamato; OMS, Organización Mundial de la Salud; rCB1, receptor cannabinoide 1; rCB2, receptor cannabinoide 2; SEC, sistema endocannabinoide; rPTCV-1, receptor

de potencial transitorio de canal catiónico vanilloide tipo 1; SNC, Sistema Nervioso Central; TDM, Trastorno de depresión mayor; TEP, tomografía por emisión de positrones; TEPT, Trastorno de estrés post-traumático.

3. INTRODUCCIÓN (antecedentes y justificación)

3.1. CONTEXTO ACTUAL DE LAS ENFERMEDADES MENTALES

Las enfermedades mentales suponen un problema mundial debido a sus altas tasas de prevalencia, a su morbilidad, mortalidad y discapacidad^(1, 2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la carga de enfermedad como el impacto de un problema de salud en un área específica medida por la mortalidad y la morbilidad⁽³⁾. Teniendo esto en cuenta, hallazgos recientes muestran que, en cuanto a la carga global de enfermedad, los trastornos psiquiátricos causan el 13% de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) y el 32,4% de años vividos con discapacidad (AVD)⁽⁴⁾. En concreto, para el año 2030, se ha previsto que la depresión será la mayor causa de carga de enfermedad a nivel mundial⁽²⁾ y, además, estas enfermedades causan un 30-40% de bajas por enfermedad crónica en países desarrollados. A esta realidad afectan varios factores que complican su diagnóstico y tratamiento, en primer lugar, presentan una amplia heterogeneidad y complejidad de síntomas relacionados con el comportamiento, el pensamiento, la interacción social y los sentimientos, que hacen que pacientes con el mismo trastorno psiquiátrico presenten clínica muy diferente y que distintos trastornos tengan síntomas en común. En segundo lugar, las enfermedades psiquiátricas presentan alta comorbilidad: aproximadamente en el 50% de pacientes con esquizofrenia existen síntomas de depresión, y en el 47% trastorno por uso de drogas. La depresión y ansiedad también están estrechamente relacionadas, el 85-90% de pacientes con depresión experimentan al mismo tiempo síntomas de ansiedad y viceversa. Esta comorbilidad resulta en un trastorno psiquiátrico más severo que deriva en una peor respuesta al tratamiento y muchas veces en una mayor probabilidad de suicidio⁽¹⁾. Biológicamente, las alteraciones neuroquímicas que en estos trastornos existen no se conocen con exactitud^(1, 4). Todas estas razones hacen que disminuyan las opciones de tratamiento farmacológico y limitan su eficacia⁽¹⁾.

3.2. BIOMARCADORES EN PSIQUIATRÍA

En los últimos años, se ha trabajado de manera exhaustiva en la identificación de biomarcadores en psiquiatría centrándose en su utilidad en la mejora de la prevención, el diagnóstico y la predicción del progreso de enfermedad^(1, 4). La primera referencia buscada se produjo en 1996, búsqueda que se ha disparado en la última década. Como definición, el término biomarcador, en psiquiatría es un término general amplio utilizado para identificar cualquier variable biológica que pueda ser objetivamente medida y aplicada al diagnóstico psiquiátrico, incluyendo, entre los más normalmente estudiados, la evaluación genética y epigenética, niveles hormonales, características del conectoma cerebral y medidas neuro-anatómicas, entre otras⁽⁵⁾. La complejidad de esta búsqueda reside en las diferencias de los trastornos psiquiátricos en comparación con otras especialidades médicas, subyacentes a su etiología y progresión de la enfermedad que limitan el éxito de la búsqueda de estos biomarcadores. Además, una vez identificados, muchos no son aplicables en clínica^(1, 5).

Aún con estas complicaciones, el conocimiento sobre el cerebro humano crece progresivamente gracias al estudio directo del tejido cerebral y al desarrollo de nuevas tecnologías, que abren un mundo de nuevas oportunidades para mejorar en este campo^(1, 2). Por ello, la identificación de nuevos biomarcadores en estos campos y mejora del conocimiento sobre los ya existentes es, hoy en día, una necesidad primordial y una prometedora herramienta para el diagnóstico, la predicción del resultado clínico y la comprensión de la fisiopatología de los trastornos mentales⁽¹⁾.

Los trastornos psiquiátricos han ganado todavía más relevancia en los últimos dos años, a causa del fuerte impacto de la pandemia mundial por COVID-19 que ha propiciado el incremento de estos trastornos. Se han impuesto medidas de prevención tales como aislamiento y distanciamiento social que han derivado en un aumento de trastornos psiquiátricos como estrés post-traumático o ansiedad^(6, 7). Ha tenido consecuencias sobre todo en niños y adolescentes en comparación con personas adultas. Esto se debe a la vulnerabilidad de las personas en estos grupos de edad destacando aquellas

que presentan necesidades especiales⁽⁶⁾. Estas razones hacen indiscutible la necesidad de identificación de biomarcadores que permitan diagnosticar estos trastornos de forma eficaz e instaurar un tratamiento dirigido y especializado.

En lo que a esto respecta, el SEC ha pasado a ser un punto muy relevante e interesante para la comunidad científica⁽⁸⁾. Muchos estudios en los últimos años revelan que sus componentes presentan una clara intervención en los mecanismos neuromoduladores que conllevan algunos procesos funcionales del cerebro tales como la regulación de los procesos cognitivos, la homeostasis emocional y el comportamiento motivacional, es decir, modula diferentes sistemas relacionados con las emociones como el dopaminérgico o el serotoninérgico⁽⁴⁾. Los CE inducen una acción moduladora de la señalización retrógrada en el sistema GABAérgico y el glutamérgico, lo que indica que el SEC también influencia a los principales sistemas excitatorios e inhibitorios⁽⁹⁾.

El estudio más profundo del SEC y de su modulación farmacológica centrando esta investigación en la búsqueda e identificación de biomarcadores en el mismo, podría llevar a una posible mejora del control de trastornos psiquiátricos tales como la ansiedad, la depresión y la esquizofrenia⁽⁴⁾. El procesamiento emocional anormal y el déficit cognitivo son características principales de muchas condiciones neuropsiquiátricas⁽¹⁰⁾, incluyendo los trastornos emocionales y la esquizofrenia, por lo que el SEC podría estar implicado en la etiopatogenia de estos ^{(10),(8),(11),(12)}.

Entender la desregulación molecular del SEC en estos trastornos puede ayudar en la búsqueda e identificación de biomarcadores y, con ello, nuevos objetivos terapéuticos, mejorando los tratamientos farmacológicos de los mismos⁽⁴⁾. También se debe tener en cuenta que la farmacología existente para ellos presenta efectos secundarios, con respuestas limitadas y no siempre buena tolerabilidad⁽¹³⁾. Por ello, esta revisión bibliográfica resume los principales hallazgos, tanto en modelos animales como en modelos humanos, de la modulación de los componentes del SEC como potencial biomarcador en los trastornos psiquiátricos de ansiedad, depresión y esquizofrenia, que resulten de interés como nuevas posibilidades farmacológicas en su tratamiento.

Finalmente, por su papel en varias funciones cerebrales y emocionales del cerebro, el SEC constituye una prometedora diana terapéutica para el desarrollo de nuevos fármacos de acción cannabinérgica, cannabimimética y cannabinoide que modulen este sistema a través de las vías metabólicas o el agonismo/antagonismo de los receptores, que puede dar respuesta beneficiosa al tratamiento de numerosos trastornos psiquiátricos^(8, 13). Todo ello, justifica la consideración del SEC como potencial biomarcador en los trastornos psiquiátricos.

3.3. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El SEC es un sistema de señalización lipídica distribuido a lo largo del organismo que se compone de receptores cannabinoideos, diferentes ligandos o CE, y sus enzimas de síntesis y degradación^(2, 4). Incluye dos familias de CE principales, la N-araquidoniletanolamina (anandamida/AEA) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG) que es el más abundante⁽¹⁴⁾, lípidos eicosanoides neuromoduladores derivados de los fosfolípidos de membrana⁽²⁾. Los CE son producidos en una gran variedad de tipos celulares, incluyendo células endoteliales, adipocitos, células gliales, macrófagos y células de Purkinje entre otras⁽¹⁵⁾. El SEC presenta dos enzimas principales de síntesis encargadas de sintetizar estos ligandos, al igual que presenta dos enzimas metabólicas principales para su degradación. La enzima fosfolipasa D específica de N-acilfosfatidiletanolamina (FLD-NAFE), sintetiza la AEA gracias a la hidrólisis de la N-araquidonilfosfatidiletanolamina de las membranas celulares. La AEA es rápidamente captada por un transportador específico de membrana localizado en neuronas y glía. La amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), es una enzima postsináptica distribuida por todo el cerebro y es la encargada de la hidrólisis de este ligando dando lugar a ácido araquidónico y etanolamina. Por otra parte, el ligando 2-AG es sintetizado por la enzima diacilglicerol lipasa (DAGL) y la enzima encargada de su degradación es una serina hidrolasa que se encuentra principalmente en terminales presinápticas llamada monoacilglicerol lipasa (MAGL) que hidroliza el ligando 2-AG en ácido araquidónico y glicerol^(2, 4) (*Figura 1*).

Los receptores cannabinoides de tipo 1 y 2 (rCB1 y rCB2 respectivamente), son receptores metabotropos asociados a proteínas G inhibitorias. Los dos CE principales actúan como agonistas presinápticos de ambos receptores^(2, 4), la AEA se comporta como agonista parcial y el 2-AG como agonista completo⁽¹⁴⁾.

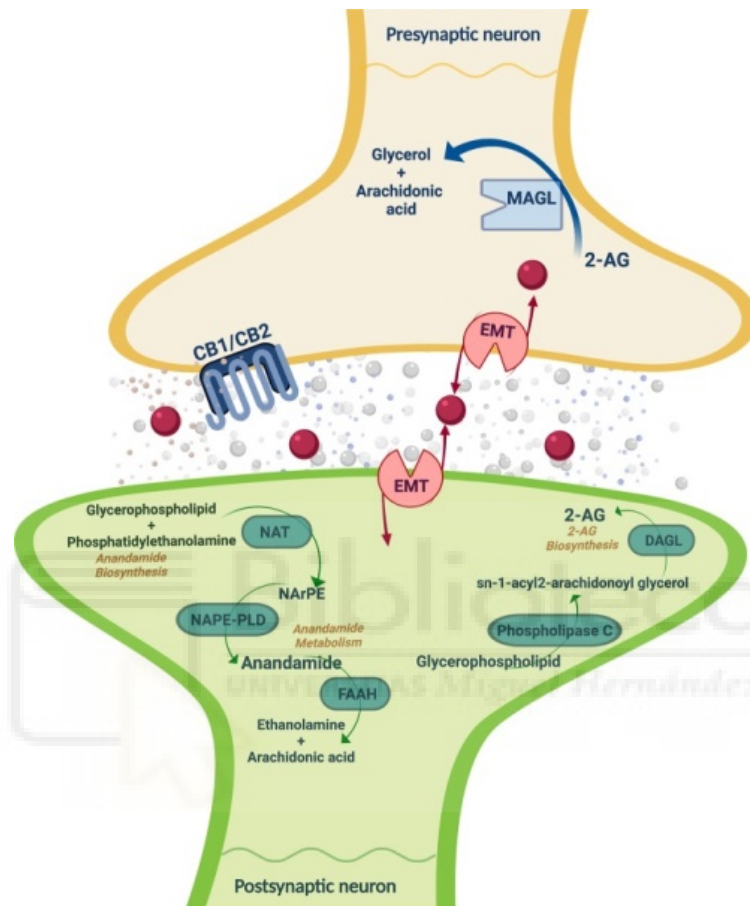


Figura 1. Representación sistemática del SEC. MAGL: enzima monoacilglicerol lipasa, 2-AG: 2-araquidonilglicerol, EMT: sistema de transporte de cannabinoides endógenos, NAT: enzima N-acetiltransferasa, NarPE: N-araquidonil-fosfatidiletanolamina, NAPE-PLD: enzima fosfodiesterasa selectiva de N-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipasa D, FAAH: enzima amida hidrolasa de ácidos grasos, DAGL: enzima diacilglicerol lipasa, CB1/CB2: receptor cannabinoide 1 y 2. Figura extraída del artículo de Navarrete et al, 2020⁽⁴⁾.

El receptor rCB1 es el receptor acoplado a proteína G más abundante en el cerebro de humanos, localizado en los ganglios basales, en regiones corticolímbicas incluyendo la corteza prefrontal (CPF), el núcleo accumbens y el hipocampo, y en zonas del cerebro relacionadas con la respuesta al estrés como la amígdala y el núcleo paraventricular del hipotálamo, además de en terminales de neuronas periféricas, células gliales y, en algunos tejidos

periféricos como el aparato reproductor, en la glándula suprarrenal, el corazón, hígado, pulmón, tejido adiposo, médula ósea, timo y microcirculación⁽⁴⁾. Las acciones fisiológicas de los CE en el Sistema nervioso central (SNC) están mediadas por su activación⁽⁴⁾. Se encuentra en neuronas GABAérgicas y glutamaérgicas; cuando es activado en las terminales presinápticas por los endocannabinoides liberados, inhibe la transmisión sináptica⁽¹⁴⁾ (*Figura 1*).

Por otro lado, los receptores cannabinoides rCB2 inicialmente se localizaron a nivel periférico en el bazo de ratones. Se observó que el gen del rCB2 era particularmente abundante en tejidos del sistema inmune; en el bazo y las amígdalas, el contenido de mRNA del rCB2 en estos sistemas, era equivalente al contenido de mRNA de rCB1 en el SNC⁽¹⁶⁾. Fue apareciendo mucha información sobre la participación del rCB2 en gran variedad de eventos inmunes y en el curso de la inflamación, lo que proporcionaba nuevos conocimientos sobre su papel en el mantenimiento del equilibrio inmunológico homeostático dentro del huésped⁽¹⁵⁾. Gracias al trabajo de Cristina Benito y colaboradores, se encontró que el rCB2 se expresaba en la placa neurítica asociada a astrocitos y microglía en el cerebro postmortem de pacientes con Alzheimer⁽¹⁷⁾. Años más tarde, Marja D. Van Sickle y colaboradores observaron la expresión del rCB2 en el tronco encefálico de rata, ratón y hurón, en situación no patológica⁽¹⁸⁾. Esta información se corrobora con el trabajo de Jian-Ping Gong y colaboradores que demostró que el rCB2 está ampliamente distribuido en el cerebro, incluyendo el hipocampo, el núcleo espinal, la amígdala, el núcleo olfatorio, el córtex cerebral, el estriado, el tálamo y el cerebelo; logrando demostrar la presencia funcional de los receptores en el SNC de rata y ratón, tanto en células neuronales como gliales, en condiciones fisiológicas⁽¹⁹⁾.

Esto sugiere que estos receptores probablemente jueguen un papel más importante como nuevo objetivo terapéutico de enfermedades mentales, de lo que se había anticipado. Más tarde, ratones que sobreexpresaban rCB2 fueron evaluados para determinar su respuesta en cuanto a comportamientos depresivos, los resultados sugirieron que una expresión incrementada de este

receptor reducía los comportamientos relacionados con depresión siendo este una nueva diana terapéutica para tratar los trastornos depresivos⁽²⁰⁾. Por último, en un estudio reciente en humanos, concretamente 18 víctimas suicidas sin historia psiquiátrica clínica, se ha visto que la expresión génica del rCB2 en la CPF dorsolateral en estos casos de suicidio fue significativamente menor que en los casos control, y la expresión proteínica mayor. Se podrá sugerir el papel relevante de este receptor también en la neurobiología del suicidio⁽²¹⁾.

4. OBJETIVO

Trabajo de revisión bibliográfica con el objetivo principal de buscar e identificar el potencial diagnóstico y terapéutico del SEC en los trastornos psiquiátricos más prevalentes actualmente, como son la ansiedad, la depresión y la esquizofrenia. Para ello, se revisarán estudios en animales y en humanos con fin de explicar el funcionamiento y utilidad del SEC como potencial biomarcador y, por tanto, como herramienta prometedora en el diagnóstico y optimización del tratamiento de estas enfermedades, es decir, en el desarrollo de nuevos fármacos que tengan objetivos terapéuticos localizados en el SEC que supongan una mejora de los síntomas de las mismas.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

En esta revisión bibliográfica, la revisión de la literatura ha consistido en una búsqueda exhaustiva de información científica en la base de datos Medline a través del buscador Pubmed. Las siguientes palabras clave y sus combinaciones han sido utilizadas para la búsqueda en la sección "Introducción": "Biomarker" AND "Mental disorders", "COVID-19", "Endocannabinoids", "Endocannabinoids" AND "Mental disorders". La búsqueda se ha centrado en los componentes del SEC: rCB1, rCB2, AEA, 2-AG, FAAH y MAGL como posibles biomarcadores en los trastornos psiquiátricos. Para la sección "Trastornos de ansiedad" fueron utilizadas las siguientes palabras clave y sus combinaciones: "Anxiety", "Cannabinoids" AND "Anxiety disorders" AND filters "Human" OR "Other animals". Para la sección "Trastornos depresivos" las palabras clave y sus combinaciones utilizadas fueron las siguientes: "Depression", "Cannabinoids" AND "Depressive disorders" AND

Filters “Human” OR “Other animals”. Por último, para la búsqueda en la sección “Esquizofrenia” fueron utilizadas las palabras clave y sus combinaciones siguientes: “Schizophrenia”, “Endocannabinoids” AND “Schizophrenia” AND filters “Human” OR “Other animals”. Estos términos se combinaron con el término “Cannabinoids” a través del operador booleano “AND”. Los resultados de las búsquedas se han analizado para establecer la inclusión o exclusión de cada referencia según su concordancia con el tema. Se han realizado además búsquedas adicionales incluyendo referencias de publicaciones ya identificadas previamente. En la selección de artículos y estudios se han excluido todos aquellos que anteriores a 1995. Por último, se han realizado búsquedas de datos demográficos y estadísticos en la página oficial de la OMS y definiciones en la 5ª edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. TRASTORNOS PSIQUIÁTRICOS Y NEUROLÓGICOS

6.1.1. TRASTORNOS EMOCIONALES

6.1.1.1. Trastornos de Ansiedad

Según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5), los trastornos de ansiedad comparten características de miedo y ansiedad excesivos, así como alteraciones conductuales asociadas. El miedo responde emocionalmente a una amenaza inminente, real o imaginaria, mientras que la ansiedad es una respuesta anticipatoria a una amenaza futura⁽²²⁾. La ansiedad es la respuesta natural de supervivencia del cuerpo a situaciones peligrosas que cursa un estado de vigilancia y actitud defensiva⁽¹³⁾.

Debido a que el SEC regula el miedo, la ansiedad y el estrés, y sus trastornos psiquiátricos agregados, es de interés particular en investigación preclínica y clínica en los trastornos de ansiedad, así como en el Trastorno de estrés post-traumático (TEPT)⁽⁸⁾. Este último trastorno, el DSM-5 lo define como la exposición a la muerte, lesión grave o violencia sexual, ya sea real o amenaza, unida a síntomas de intrusión como recuerdos y sueños angustiosos, evitación persistente de estímulos y alteraciones cognitivas negativas asociados al

suceso, y una alteración de la alerta y reactividad relacionada con este suceso que dure más de un mes⁽²²⁾.

En animales, hay bastantes estudios que apoyan la consideración del rCB1 como biomarcador potencial en trastornos de ansiedad. Su activación disminuye la ansiedad a bajas dosis y los efectos ansiogénicos ocurren a dosis más altas⁽⁴⁾. También, estrategias farmacológicas que reducen la actividad de FAAH o MAGL, y de receptores como el receptor de potencial transitorio de canal catiónico vanilloide tipo 1 (rPTECV-1)⁽²³⁾, se han relacionado en humanos y roedores con disminuir los comportamientos característicos de la ansiedad^(2, 8). Los ansiolíticos y antidepresivos utilizados para tratarla, a menudo tienen efectos adversos desfavorables y resultados limitados, el SEC podría ser una prometedora alternativa terapéutica⁽¹³⁾.

En humanos, muchos estudios neuroquímicos, de neuroimagen y moleculares genéticos sugieren un vínculo potencial entre la desregulación de la señalización del SEC y los comportamientos relacionados con la ansiedad, tanto en pacientes sanos como en pacientes con trastornos donde la ansiedad es el síntoma principal, como el TEPT. Durante la infancia y la adolescencia, el SEC es un mediador primordial del balance entre neurotransmisión inhibitoria y excitatoria, lo que hace que su señalización sea muy sensible a variaciones que aumentan el riesgo de padecer ansiedad⁽²⁾.

En esta revisión bibliográfica se va a realizar una búsqueda exhaustiva de información científica, tanto clínica como preclínica, focalizada en el SEC y en la identificación de sus componentes, de entre los que se destacan el CBr1, el CBr2, AEA, 2-AG, FAAH, MAGL y algunos genes, como biomarcadores que puedan servir como potencial diana terapéutica en el diagnóstico y tratamiento de los síntomas e indicios relacionados con la ansiedad, además del TEPT, cuyo síntoma principal es la ansiedad. De esta forma se podría contribuir a un avance en la búsqueda de soluciones para un mejor conocimiento de estos comportamientos característicos de la ansiedad, que pueda llevar a un diagnóstico más acertado, a un tratamiento más adecuado y dirigido, logrando finalmente un buen control de la enfermedad.

AEA y FAAH

La amplificación de la movilización de CE mediante inhibición farmacológica en su degradación vía FAAH y MAGL, se ha asociado a una disminución de comportamientos ansiosos en ratones y variación en los síntomas humanos de ansiedad. En muchos estudios se ve que la actividad de FAAH en condiciones de estrés, está aumentada en regiones del cerebro relacionadas con la ansiedad, sobre todo en la amígdala^(2, 8). Por ello, su inhibición, y el consiguiente aumento de AEA, producen efectos contra la ansiedad⁽⁸⁾.

Estudios en animales (preclínicos)

Se ha dispuesto que la inhibición de FAAH, y la consecuente elevación de la señalización de AEA, puede mitigar los comportamientos relacionados con la ansiedad y el miedo en roedores⁽⁸⁾. El grupo Piomelli's caracterizó, hace más de diez años, el primer inhibidor de la FAAH, URB597, ratificó que esa inhibición de la hidrólisis de AEA producía efectos ansiolíticos en ratas⁽²⁴⁾. Muchos estudios posteriores lo corroboran, con efecto significativo si se inhibe selectivamente la FAAH en condiciones de alto estrés ambiental ya que la enzima aumenta su actividad en situaciones de alta adversidad en las regiones del cerebro que regulan la ansiedad, destacando la amígdala^(25, 26). El efecto del aumento de señalización de AEA, es una recomposición de la homeostasis de los sistemas que median estos síntomas una vez pasado el estrés⁽⁸⁾.

El estrés es el principal factor para el desarrollo de los trastornos de ansiedad. La fisiopatología de los trastornos de ansiedad está vinculada a una alteración del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHS). En lo que a esto respecta, un estudio ha mostrado como un bloqueador dual de la FAAH y del rPTCV-1 ha sido capaz de invertir la conducta desesperada en condiciones de estrés en ratas, efecto que se asocia a la regularización del eje HHS tras la aplicación del factor estresante. Este bloqueo simultáneo por tanto, también puede ser un nuevo objetivo de investigación como estrategia terapéutica en el tratamiento de trastornos de ansiedad⁽²³⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En voluntarios humanos sanos, varios estudios han detectado niveles reducidos de AEA en pacientes con trastornos psiquiátricos relacionados con el estrés, incluido el TEPT⁽²⁷⁾. Además, se ha identificado una variante genética en el gen FAAH humano, el polimorfismo C385A (rs324420), que desestabiliza la proteína y reduce la hidrólisis de AEA. Este gen está relacionado con la función cerebral de amenazas y recompensas, y mediante estudios genéticos se ha visto que portadores del alelo A, tienen una activación reducida de las respuestas de la amígdala a las amenazas, aunque una mayor reactividad del cuerpo estriado ventral en situaciones de recompensa⁽²⁸⁾. Más tarde, tanto en ratones como en humanos, se demostró mayor extinción del miedo en portadores de este mismo alelo⁽²⁹⁾.

2-AG y MAGL

Estudios en animales (preclínicos)

Por otro lado, en cuanto a la inhibición de la MAGL y el consiguiente aumento de señalización de 2-AG relacionada con la ansiedad, la literatura es escasa, pero se ha demostrado que circunstancias estresantes crónicas afectan a su señalización. Se han realizado estudios con inhibidores de MAGL para corroborarlo que han revelado que esta inhibición produce efectos ansiolíticos limitados a momentos de alto estrés, parecido a los efectos de la inhibición de FAAH, lo que también explica la síntesis a demanda de 2-AG aumentada en momentos de alto grado de ansiedad⁽⁸⁾. Sin embargo, existen datos de que los inhibidores MAGL no tienen efecto en los síntomas de ansiedad⁽²⁵⁾.

Un buen ejemplo de inhibición de los efectos de la MAGL, es un estudio en el que se vio que ratones tras ser sometidos a un constante estrés social, desarrollaban una patología con síntomas de ansiedad y mostraban 2-AG deficiente en el núcleo accumbens⁽³⁰⁾. También, la eliminación genética de MAGL produjo un fenotipo con síntomas relacionados con la ansiedad en ratones ligado al daño en la señalización del rCB1⁽³¹⁾.

En un estudio reciente se compararon los efectos de un inhibidor de FAAH (PF-3845), uno de MAGL (JZL184) y uno dual FAAH/MAGL (JZL195) en

comportamientos relacionados con la ansiedad bajo y sin condiciones de estrés en ratones. Los resultados determinaron que tanto PF-3845 como JZL184, administrados antes de la exposición a estrés, previnieron la ansiedad, algo que no ocurrió con JZL195. Se concluye que el aumento de AEA endógena o de 2-AG por separado reduce la ansiedad bajo situaciones de estrés, efectos que no se obtienen aumentando ambos CE de forma simultánea⁽¹¹⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En el caso de humanos, aún no se han identificado variantes funcionales en el gen de MAGL. Sin embargo, a nivel sanguíneo se han encontrado algunas evidencias relacionadas con el TEPT. En un estudio con pacientes que cumplen con diagnóstico con TEPT tras el atentado del 11S se ha visto una reducción de 2-AG circulante⁽³²⁾ y, en otro estudio más reciente, mostró que voluntarios sanos presentaron niveles circulantes en sangre de 2-AG disminuidos progresivamente, tras un confinamiento y aislamiento social de 520 días, es decir, un factor crónico estresante. Por el contrario, en este estudio la concentración de AEA se mantuvo constante, con lo que la señalización de 2-AG específicamente, podría estar implicada en la respuesta a estos factores estresantes crónicos⁽³³⁾.

En conjunto, estas bases de evidencia de datos en roedores y humanos impulsan a investigar los niveles de CE, con el foco en el metabolismo de la AEA o de 2-AG a través de la FAAH o MAGL respectivamente, como posibles biomarcadores para el desarrollo de estrategias terapéuticas nuevas que consigan modular estados de ansiedad evitando los efectos adversos de los ansiolíticos habituales. Por todas estas razones, existe un soporte emergente al estudio de estos componentes del SEC como nueva vía terapéutica para el tratamiento de los trastornos de ansiedad. Esto ha provocado la involucración de varias compañías farmacéuticas⁽⁸⁾.

rCB1

El rCB1 se ha reconocido como un biomarcador potencial en los trastornos de ansiedad ya que se relaciona con los sistemas de recompensa naturales como,

por ejemplo, la interacción social o la comida, además de que se distribuye en áreas del cerebro relacionadas con la regulación emocional^(4, 13).

Estudios en animales (preclínicos)

Su activación resulta en efectos ansiolíticos y de prevención del miedo y del estrés crónico⁽¹³⁾. A bajas concentraciones, CE y cannabinoides exógenos ejercen efectos ansiolíticos a nivel del rCB1 en terminales glutamérgicas⁽⁸⁾, mientras que las acciones ansiogénicas suceden a dosis altas o tras inhibición del receptor⁽⁴⁾. En relación con esto, un estudio reveló que el CP-55,940 en dosis bajas, un agonista cannabinoide sintético rCB1, produce un efecto ansiolítico mediado por rCB1 en las neuronas glutamérgicas. Por el contrario, media la acción ansiogénica de dosis más altas de agonista en relación con los receptores rCB1 y GABA_B en las GABAérgicas⁽³⁴⁾.

La activación del rCB1 en estructuras cerebrales relacionadas con las respuestas aversivas, ha demostrado reducir la ansiedad. Un estudio realizado en la sustancia gris periacueductal dorsolateral del mesencéfalo de ratas, demostró que la inyección del ACEA, agonista selectivo de rCB1, en esta estructura, producía efectos ansiolíticos. También producía estos efectos la inyección de AEA endógena, potenciados por AM404, inhibidor de su recaptación y bloqueado por AM251, un antagonista de rCB1. En ambos casos fueron ineficaces a dosis bajas⁽³⁵⁾.

La señalización del rCB1 también tiene efecto en la actuación de fármacos. El antagonista de rCB1, AM251, demostró en un estudio reciente eliminar completamente la acción ansiolítica del alprazolam⁽³⁶⁾. También, otro estudio demostró cómo este mismo antagonista bloqueó los efectos ansiolíticos de alprazolam además de reducir significativamente las acciones sedante y amnésica del fármaco⁽³⁷⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

A nivel genético, el gen *CNR1* codifica rCB1 y se han realizado estudios genéticos cuyos resultados podrían ofrecer los polimorfismos del gen como biomarcadores de riesgo de padecer TEPT. De hecho, se ha encontrado una

asociación significativa de un haplotipo de este gen, formado por los polimorfismos rs806368 y rs1049353, en un solo nucleótido, con el TEPT⁽³⁸⁾. También existen estudios en humanos de neuroimagen in vivo que apoyan que una señalización anormal a través del rCB1 se asocia con el TEPT. Neumeister y colaboradores demostraron la mayor disponibilidad de receptores rCB1 en humanos con TEPT sin tratar en relación con los pacientes control (sin historia de suceso traumático), mediante tomografía por emisión de positrones (TEP) con un marcador selectivo del receptor⁽²⁷⁾.

Uniendo todos estos datos también se justifica la investigación del rCB1 como biomarcador para la búsqueda de nuevas estrategias farmacológicas actuando a nivel distintos niveles como el gabaérgico, el glutamaérgico e, incluso a nivel genético destacando esta última búsqueda a nivel del TEPT.

rCB2

Estudios en animales (preclínicos)

Estudios realizados en ratones que destacan el papel del rCB2 en el comportamiento social y agresivo, comportamientos muy vinculados a la ansiedad que pueden manipularse genética y farmacológicamente por esta vía. En un estudio, la administración aguda del agonista rCB2 JWH133 redujo significativamente el nivel de agresión en ratones agresivos aislados⁽³⁹⁾. En ratones transgénicos que presentaban un aumento de la expresión de rCB2 en el cerebro se aminoraron significativamente los comportamientos similares a la ansiedad y deterioró la acción de fármacos ansiolíticos como el alprazolam⁽⁴⁰⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

También, en humanos se ha visto a nivel genético en que una variante funcional del gen *CNR2*, que codifica el rCB2, interactúa de alguna manera con el gen que codifica FAAH, lo que parece aumentar el riesgo de trauma infantil cuando existe disfuncionalidad simultánea de ambos⁽⁴¹⁾. Aunque no existe tanta información, esto podría suponer también un nuevo biomarcador relacionado con el SEC, en concreto, el rCB2, cuya modulación farmacológica se pudiera utilizar con objetivo de tratar los trastornos de ansiedad desde nuevas perspectivas.

6.1.1.2. Trastornos depresivos

El DSM-V divide los diferentes trastornos depresivos según sus síntomas específicos o por su etiología, pero todos comparten síntomas como el estado de ánimo bajo, caracterizado por la desmoralización y la pena, sentimientos de culpa, falta de interés e ideas de suicidio que van unidas a una pérdida prolongada de funcionalidad del individuo⁽²²⁾. Dentro de estos, destaca el trastorno de depresión mayor (TDM) ya que, según la OMS en 2021, aproximadamente 280 millones de personas tienen depresión a escala mundial⁽⁴²⁾, y es la causa principal de suicidio a nivel mundial⁽⁴³⁾. El TDM se explica según el DSM-V con la presencia de cinco o más síntomas durante dos semanas en los que sí o sí debe aparecer estado de ánimo depresivo la mayor parte del día y/o anhedonia marcada, junto con la presencia de síntomas adicionales como pueden ser la pérdida de peso significativa, trastornos del sueño, fatiga, sentimiento de inutilidad o de culpa excesivo, falta de concentración, trastornos psicomotores o pensamientos suicidas⁽²²⁾.

Actualmente, el tratamiento farmacológico del TDM presenta varios inconvenientes. Algunos problemas existentes son los efectos secundarios y el retraso terapéutico entre la administración del fármaco y el inicio del efecto antidepressivo, que no se hace notorio hasta pasadas unas semanas. Por la evidencia existente de que la desregulación del SEC se relaciona con el TDM y más trastornos depresivos, la búsqueda de potenciales biomarcadores diagnósticos y terapéuticos puede ser una nueva orientación en el descubrimiento de farmacología efectiva en el contexto de la depresión^(2, 4).

El SEC se ha explorado con el propósito de encontrar biomarcadores relacionados con la depresión por su estrecho vínculo con la regulación emocional. Tanto en estudios animales como en estudios humanos se ha visto cómo la disfunción de la señalización del SEC puede producir comportamientos depresivos⁽⁴³⁾, como anhedonia o desesperación⁽⁴⁾. Se ha visto que a nivel preclínico, los modelos de depresión presentan señalización reducida del CE centrales, mientras que a nivel clínico, pacientes diagnosticados con depresión tienen disminuidos los niveles circulantes de CE⁽⁴⁴⁾. Variaciones en la

concentración de los CE, su afinidad por los rCB1 y su densidad, se han identificado en la CPF con personas con trastornos depresivos. También se ha visto que una mutación en el gen que codifica rCB1 (*CNR1*), puede estar asociada a la depresión. Por tanto, la mejora de la señalización endocannabinoide puede presentar un nuevo enfoque terapéutico para la mejora del manejo de los trastornos depresivos⁽⁴³⁾.

Por ello, esta revisión bibliográfica pretende revisar la literatura científica disponible hasta la fecha con el fin de buscar e identificar biomarcadores en el SEC, tanto en estudios en animales como en estudios en humanos. Dentro de los componentes en el sistema, destacan el AEA, 2-AG, FAAH, MAGL, rCB1, el rCB2. Estos podrían servir como potenciales biomarcadores para descubrir nuevos objetivos terapéuticos que ayuden a identificar los síntomas de los trastornos depresivos, para mejorar el diagnóstico y tratamiento de los trastornos que los contienen, destacando el TDM por su prevalencia descrita.

[AEA y FAAH + 2-AG y MAGL](#)

La desregulación en los niveles de CE, tales como AEA y 2-AG, se han observado tanto en modelos animales de depresión, como en humanos con trastorno depresivo. Los inhibidores de estos CE han mostrado ser eficaces en la mejora de la respuesta al estrés y en los trastornos relacionados con el estado de ánimo, por lo que la mejora de su señalización podría resultar ser un potencial biomarcador como nueva terapia farmacológica de los mismos⁽⁴⁵⁾.

[Estudios en animales \(preclínicos\)](#)

En lo que a esto respecta, en estudios preclínicos se ha visto cómo la desregulación de FAAH se asocia a comportamientos depresivos en ratas Wistar Kyoto, un modelo genético de depresión. Se observaron mayores niveles de la enzima y, consecuentemente menores de AEA, en el córtex frontal y en el hipocampo en este modelo que en el modelo control, sin cambios en NAPE-PLD⁽⁴⁶⁾. También la inhibición de FAAH mediante URB597 mitigó los comportamientos relacionados con la depresión tras su administración en modelos animales^{(46),(47),(48)}. Por otro lado, el tratamiento crónico con el inhibidor de MAGL, JZL194, causa efectos similares a los antidepresivos en el modelo

animal de estrés crónico impredecible⁽⁴⁹⁾. Adicionalmente, un estudio reciente con el inhibidor JZL195 en ratas, que inhibe simultáneamente FAAH y MAGL, demostró que este causaba el aumento de CE y de factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC) en el cuerpo estriado ventral y reducía los comportamientos depresivos en ratas hembra⁽⁵⁰⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En los últimos años se ha impulsado la búsqueda por comprender las alteraciones en los componentes del SEC, entre las cuales se encuentran los CE, AEA y 2-AG, en muestras de sangre de pacientes con depresión, para identificar posibles biomarcadores para la mejora del tratamiento. La prevalencia de depresión es mayor en mujeres. En un estudio se midieron los niveles de CE y FNDC en el estriado ventral post mortem de pacientes depresivas con TDM y los resultados mostraron niveles más bajos⁽⁵⁰⁾. También, se ha visto en suero de mujeres diagnosticadas con depresión sin tratamiento farmacológico, que los niveles sanguíneos de 2-AG disminuyeron de manera gradual conforme avanzaba el episodio depresivo⁽⁵¹⁾, y que concentraciones séricas de AEA y 2-AG en mujeres con TDM no tratadas fueron significativamente menores, indicando un déficit en la actividad endocannabinoide periférica⁽⁵²⁾.

En cuanto a los genes de estas enzimas, el polimorfismo funcional de un solo nucleótido no sinónimo rs324420:C385A del gen FAAH, está asociado a una expresión celular reducida de FAAH y, portadores del alelo A se asocian con trastornos como el TDM, lo que indican estos hallazgos preliminares es una posible susceptibilidad a los trastornos depresivos en pacientes portadores de este alelo⁽⁵³⁾. También este polimorfismo podría ser un factor de riesgo en el desarrollo de depresión en pacientes adultos con historia de trauma infantil, por la consecuente disminución de FAAH por causa genética⁽²⁹⁾. Por último, los portadores del polimorfismo rs324420 en el gen FAAH se asocia a una menor integridad en la sustancia blanca frontolímbica y a un aumento de los síntomas depresivos y de apatía en jóvenes⁽⁵⁴⁾.

rCB1

Estudios en animales (preclínicos)

En varios estudios se observó como el bloqueo farmacológico de los receptores rCB1 generaba cambios neuroquímicos y conductuales parecidos a los que generan los antidepresivos⁽⁵⁵⁾. También que el antagonista de rCB1 en ratones, el AM251, produjo efectos contrarios a la depresión en las pruebas de suspensión de la cola y de nado forzado reduciendo significativamente la inmovilidad⁽⁵⁶⁾. Además, resultados parecidos se obtuvieron al administrar Rimonabant (SR 14176A), otro antagonista de rCB1, en modelos de reactividad emocional y depresiva en roedores⁽⁵⁷⁾. Sin embargo, existe contradicción por la existencia de otros estudios preclínicos que han determinado que también la activación de rCB1 puede producir efectos depresivos^{(58),(59)}.

A pesar de ello, la participación de los rCB1 en el TDM sigue siendo de especial interés⁽⁶⁰⁾. El SEC del hipocampo ha resultado ser sensible a la administración de antidepresivos. En un estudio realizado en los rCB1 de la circunvolución dentada del hipocampo, en la prueba de natación forzada, un agonista del rCB1 HU-210, indicó una respuesta antidepresiva por una reducción drástica de la inmovilidad⁽⁶¹⁾. También los receptores cannabinoides rCB1 modulan el comportamiento depresivo a través de los aferentes glutamatergicos desde la ABL al núcleo accumbens, ya que el bloqueo del circuito produjo efectos similares a los antidepresivos⁽⁶²⁾. Además, el núcleo accumbens participa en el circuito de recompensa, con lo que su disfunción puede dar lugar a comportamientos similares a la depresión como la anhedonia⁽⁶³⁾. Las alteraciones del SEC, en concreto el deterioro de rCB1, inducidas en ratones mediante estrés crónico, produjeron indicios depresivos que fueron prevenidos por el antidepresivo Fluoxetina⁽⁶³⁾. También existen estudios que determinan que el SEC está alterado tras un tratamiento crónico con antidepresivos a través de un aumento de la expresión de rCB1⁽⁶⁴⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En pacientes con depresión, existe evidencia disponible de estudios clínicos que analizan la alteración de diferentes componentes del SEC, entre ellos el

rCB1. Los estudios en cerebros post mortem y los análisis de imágenes han determinado que la desregulación de ABL influye significativamente en la fisiopatología del trastorno, lugar donde están muy presentes los rCB1, aunque aún no se han caracterizado muy a fondo los mecanismos que la modulan⁽⁶²⁾. Adicionalmente, estudios en humanos han demostrado la relación entre la desregulación del SEC y el TDM⁽⁴⁴⁾. Estudios post mortem han revelado el papel potencial de los rCB1 en la fisiopatología de la depresión y han confirmado concentraciones elevadas de estos en la CPF de pacientes depresivos en comparación con pacientes sanos⁽⁴³⁾. La densidad de rCB1 y su funcionalidad, aumenta en el córtex frontal de los pacientes con TDM, como se vio en un estudio de víctimas suicidas deprimidas⁽⁶⁵⁾. Otro estudio mostró que los niveles de ARNm de rCB1 en la CPF dorsolateral eran más altos en pacientes con depresión⁽⁶⁶⁾. Finalmente, un SEC alterado puede contribuir a la fisiopatología de depresión alterando la regulación cruzada de los rCB1 sobre los receptores N-metil-D-aspartato de glutamato (NMDA) por modificación en su interacción a través de la proteína 1 de unión a nucleótidos de la tríada histidina (HINT-1), en lo que a esto respecta, un estudio ha determinado un aumento en HINT-1 y de la subunidad NR1 de los receptores NMDA en la CPF post mortem de pacientes deprimidos por una desregulación de rCB1⁽⁶⁷⁾.

El estudio de variaciones genéticas polimórficas en relación con el SEC es de interés por su posible valor diagnóstico y terapéutico. El gen *CNR1* del rCB1, parece modular el fenotipo depresivo y la respuesta al tratamiento antidepresivo. Polimorfismos en el mismo, podrían estar relacionados con alto neuroticismo y baja amabilidad en pacientes, lo que aumenta el riesgo a padecer depresión, influyen por tanto en la susceptibilidad de sufrir trastornos depresivos como el TDM⁽⁶⁸⁾. El polimorfismo de un solo nucleótido de este gen, rs1049353 (G1359A) se ha visto que podría afectar al riesgo de padecer trastornos del estado de ánimo en humanos⁽⁵³⁾, en personas con 1 o más copias del alelo menor (A), muestran una amortiguación de la anhedonia y la depresión tras un trauma infantil⁽⁶⁹⁾ y, el alelo G se ha asociado a un mayor riesgo de resistencia al tratamiento antidepresivo en mujeres con TDM que presentan ansiedad comórbida⁽⁷⁰⁾. También mencionar el polimorfismo

rs806371 de este gen, del cual el alelo G es más frecuente en pacientes con TDM que presentan síntomas psicóticos comórbidos⁽⁷¹⁾. Por otro lado, se ha visto una menor incidencia de depresión en pacientes con enfermedad de Parkinson que presentan 2 alelos largos del triplete polimórfico (AAT) del gen *CNR1*⁽⁷²⁾. Finalmente, se destaca también el alelo C del polimorfismo *CNR1* rs2023239 porque sus portadores presentan menos riesgo de desarrollo de TDM en pacientes en tratamiento con metadona⁽⁷³⁾.

rCB2

Estudios en animales (preclínicos)

Para este biomarcador existen menos resultados disponibles a día de hoy, pero como se ha visto en la ansiedad, también se ha demostrado su papel en los trastornos depresivos⁽²⁰⁾. Una de las primeras evidencias surgen de un estudio que dio resultados de disminución de los rCB2 en el cuerpo estriado, el mesencéfalo e hipocampo en un modelo animal de depresión⁽⁷⁴⁾. Más tarde, el agonista selectivo de rCB2, GW405833, redujo los comportamientos similares a la depresión en rata⁽⁷⁵⁾, resultados que fueron similares a unos obtenidos al administrar el agonista de rCB2, JWH133⁽⁷⁶⁾. Además, se ha encontrado un endofenotipo de ratones que sobreexpresan rCB2 que presentan una disminución de los comportamientos depresivos⁽²⁰⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

Sobre todo se han centrado en búsquedas a nivel genético. Los polimorfismos del gen de rCB2, *CNR2*, los estudiaron por primera vez Onaivi y colaboradores en pacientes japoneses deprimidos, viendo en ellos una mayor asociación del polimorfismo Q63R a los síntomas de depresión⁽⁷⁴⁾. También, el alelo R de este polimorfismo *CNR2*, junto con el alelo A del polimorfismo FAAH C385A, se han relacionado con una mayor susceptibilidad a sufrir trauma infantil que podía llevar a síntomas ansiosos y depresivos más tardíos⁽⁴¹⁾. Según un metaanálisis reciente, el polimorfismo *CNR2* rs2501432 puede estar significativamente ligado a un fenotipo de depresión⁽⁷⁷⁾. Finalmente, portadores del alelo AA del polimorfismo *CNR2*, presentan más gravedad de síntomas de depresión comparando con portadores del alelo G⁽⁷⁸⁾.

6.1.2. ESQUIZOFRENIA

La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico, conductual y cognitivo crónico con antecedentes genéticos y neurobiológicos heterogéneos que puede crearse por la detención del desarrollo cerebral. La neurotransmisión dopaminérgica está desregulada influenciando la aparición de síntomas psicóticos, aunque existe evidencia de participación de más vías neuroquímicas y circuitos cerebrales⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾. De acuerdo con el DSM-V, es un trastorno psicótico que incluye síntomas positivos como el delirio, las alucinaciones, la desorganización del pensamiento y del habla, y el desorden del comportamiento motor o catatonia, síntomas negativos como la reducción de la motivación y de la expresión emocional, y síntomas de la función cognitiva, como disfunción de la atención⁽²²⁾.

De acuerdo con la OMS, la esquizofrenia a escala mundial afecta a aproximadamente 24 millones de personas, es decir, a 1 de cada 300 personas⁽⁸²⁾. Aproximadamente un tercio de los pacientes diagnosticados con esquizofrenia no alcanzan un adecuado control de los síntomas con los fármacos antipsicóticos habituales, lo que conlleva un importante problema de salud dada la prevalencia del trastorno⁽¹²⁾. Existen varios estudios que reflejan cómo se involucra el SEC en esta enfermedad. Por un lado, se han estudiado los efectos psicóticos derivados del consumo de cannabis atribuidos al cannabinoide exógeno THC pero, por otro lado, ha aumentado el interés por la búsqueda de biomarcadores específicos relacionados con el SEC que ayuden a la prevención, diagnóstico o tratamiento⁽⁴⁾. De la planta de cannabis (*Cannabis sativa*) se extraen gran cantidad de compuestos farmacológicamente activos llamados fitocannabinoides que actúan en el SEC, de los cuales, algunos no tóxicos se han concebido en modelos clínicos y preclínicos como posibles antipsicóticos⁽¹²⁾. Los fármacos antipsicóticos actuales, que son el principal tratamiento de la esquizofrenia, no son eficaces en todos los pacientes y sus beneficios se limitan a la mejora de los síntomas positivos, teniendo un impacto nulo o limitado en los síntomas negativos y el deterioro cognitivo⁽²⁾.

Como recientemente se ha puesto un gran interés en identificar alteraciones específicas en los componentes del SEC que podrían ser útiles para

proporcionar nuevos biomarcadores con fines preventivos, diagnósticos y terapéuticos, esta revisión bibliográfica incluye las evidencias científicas existentes, tanto a nivel clínico como a nivel preclínico, centrada en la identificación de los componentes del SEC como biomarcadores con este fin. De entre ellos, despunta el CBr1 seguido del CBr2, AEA, 2-AG, FAAH, MAGL. Destacar la importancia de la investigación a nivel genético, ya que la esquizofrenia tiene una heredabilidad estimada del 80% (83), con lo que también destacan algunos genes como posibles biomarcadores que se consideren de interés, contribuyendo así a la mejora del diagnóstico y tratamiento de la esquizofrenia compleja, permitiendo abordarla con nuevos y prometedores recursos farmacológicos.

AEA y FAAH + 2-AG y MAGL

Estudios en animales (preclínicos)

Se han realizado esfuerzos para investigar el papel de la participación de los CE, así como de sus enzimas de degradación, como biomarcadores en la esquizofrenia. Existen algunas evidencias que destacan el papel de sus alteraciones en cuanto a este trastorno. La administración crónico-intermitente de fenciclidina es un modelo preclínico aceptado de déficit cognitivo similar a esquizofrenia; la presencia aumentada de los niveles de 2-AG en su CPF sugiere que la desregulación de CE puede influir en los síntomas cognitivos relacionados con neuronas glutamérgicas presentes en la esquizofrenia. Ese aumento de 2-AG se revirtió por el tratamiento con THC, induciendo paralelamente una disminución en los niveles de AEA en la misma región⁽⁸⁴⁾. También, en el mismo modelo se encontraron niveles disminuidos de AEA en la CPF y la amígdala cuando las ratas se sometieron a una prueba de interacción social⁽⁸⁵⁾. La bulbectomía olfatoria bilateral en roedores produce cambios conductuales y neuroquímicos asociados clínicamente con depresión y esquizofrenia. Ratas Sprague-Dawley expuestas esta condición, mostraron niveles de ambos CE disminuidos en el cuerpo estriado ventral⁽⁸⁶⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En un estudio se encontraron niveles de AEA significativamente más altas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles sanos⁽⁸⁷⁾, resultados similares se encontraron en el LCR de consumidores esquizofrénicos de cannabis y, este aumento de AEA fue más de 10 veces mayor en consumidores de cannabis de baja frecuencia que en los de alta frecuencia⁽⁸⁸⁾. También en sangre fueron mayores los niveles de AEA en pacientes con esquizofrenia aguda y volvieron al nivel basal con la remisión clínica⁽⁸⁹⁾. En cuanto a las enzimas metabolizadoras, un estudio en la CPF post mortem de sujetos con esquizofrenia no se encontraron alteraciones en la expresión de ARNm de FAAH o MAGL, pero sí se vio un aumento significativo de la actividad FAAH en estos pacientes en comparación con los controles⁽⁹⁰⁾. Finalmente, en otro estudio se observó un aumento de ARNm de la enzima metabolizadora de 2-AG, dominio 6 de α - β - hidrolasa (ABHD6), en la CPF de pacientes esquizofrénicos⁽⁹¹⁾.

rCB1

De entre todos los componentes del SEC, el CB1r es el que más presente está e influencia de manera decisiva en la esquizofrenia. Hasta el día de hoy se ha recopilado gran cantidad de información para entender su relación con el trastorno. La mayoría de estudios en este campo, desde un punto de vista farmacológico, demuestran cómo la activación de rCB1 induce efectos similares a los psicóticos y su inhibición produce lo contrario.

Estudios en animales (preclínicos)

Los estudios en animales para este trastorno se fundamentan en la disminución de la magnitud de la respuesta de sobresalto por el fenómeno de inhibición previa al pulso (IPP), una medida muy útil de los déficits en el procesamiento de la información y la falla inhibitoria en animales y humanos con esquizofrenia⁽⁹²⁾. Se produjeron grandes disminuciones en las respuestas de sobresalto acústico al administrar CP-55,940, un potente agonista rCB1, efectos que fueron totalmente revertidas por su antagonista Rimonabant⁽⁹³⁾. Esta activación auditiva alterada indica procesamiento de información

disfuncional en pacientes con esquizofrenia, y se demostró que esta condición está mediada por rCB1 al medir las oscilaciones de la red neuronal en el hipocampo y la corteza entorrinal de ratas Sprague-Dawley. El CP-55,940 indujo un déficit de la activación sensorial y una disminución de la oscilación neuronal, efectos que fueron revertidos por el antagonista rCB1, AM251⁽⁹⁴⁾. Las alteraciones sensoriomotoras producidas por la modulación de rCB1 fueron evaluadas en distintos modelos animales de esquizofrenia con motivo de buscar una nueva estrategia terapéutica en su bloqueo. En un estudio donde se demuestra que el bloqueo de los receptores de NMDA produce déficit de la activación sensoriomotora, en modelos animales, un síntoma presente en pacientes con esquizofrenia⁽⁹⁵⁾. Usando MK-801, un antagonista de estos receptores, produjo deterioros cognitivos que fueron revertidos por el antagonista rCB1 AVE1625, además de disminuir los efectos secundarios inducidos por fármacos antipsicóticos habituales en clínica, en concreto la catalepsia y el aumento de peso⁽⁹⁶⁾. También AM251 mitigó los efectos de amnesia e hiperactividad inducidos por MK-801⁽⁹⁷⁾. Se concluye que el bloqueo de rCB1 podría constituir una potencial estrategia farmacológica para el tratamiento de los síntomas de esquizofrenia.

Por otro lado, también se ha visto que en regiones corticales, subcorticales y cerebelosas del modelo animal de esquizofrenia “tres impactos”, los niveles de unión de rCB1 y la activación de la proteína G mediados por agonista cannabinoide, se redujeron notablemente⁽⁹⁸⁾. Además, la cepa de ratas espontáneamente hipertensas, que muestra condiciones similares a los síntomas de esquizofrenia, mostraron un aumento de la expresión de rCB1 en la corteza prelímbica, la corteza cinglada y en la región CA3 del hipocampo dorsal⁽⁹⁹⁾.

Estudios en humanos (clínicos)

En humanos, se ha visto, tanto en estudios post mortem como en estudios de imagen, que las alteraciones significativas del rCB1 en esquizofrenia son a nivel de expresión génica, de proteína de rCB1 y de polimorfismos *CNR1*, sobre todo a nivel central aunque también a nivel periférico. Este receptor, por

esos motivos, se concibe como potencial biomarcador de pronóstico, diagnóstico y tratamiento de esquizofrenia. La unión del receptor en varias áreas del cerebro se ha visto aumentada en pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles sanos en estudios post mortem; un estudio observó que, mediante autorradiografía cuantitativa del rCB1 con el ligando selectivo de rCB1 [(3)H]-OMAR, existía mayor unión del ligando en la CPF dorsolateral en pacientes esquizofrénicos que en los controles sanos⁽¹⁰⁰⁾, esta unión también se incrementó en la corteza cingulada anterior⁽¹⁰¹⁾, y en la parte superficial de la corteza cingulada posterior⁽¹⁰²⁾ en pacientes esquizofrénicos en comparación con los controles. Sin embargo, se han informado de déficits de expresión de genes o de proteínas en pacientes con este trastorno. Volk y colaboradores tratan esta discrepancia con la unión de rCB1 midiendo el ARNm de rCB1 y la proteína en la CPF dorsolateral de 21 pacientes esquizofrénicos, obteniendo niveles más bajos que en los controles sanos emparejados, al contrario que los niveles de unión que fueron más altos⁽¹⁰⁰⁾.

También se han realizado estudios in vivo (de neuroimagen); la unión rCB1 aumentó en el núcleo accumbens, la ínsula, la corteza cingulada, la corteza frontal inferior, el lóbulos parietal y mediotemporal de pacientes esquizofrénicos demostrado mediante PET y el radioligando selectivo de alta afinidad [(18)F]MK-9470⁽¹⁰³⁾, además con el radioligando PET, [(11)C]OMAR (JHU75528), Wong y colaboradores vieron que la unión de rCB1 fue mayor en muchas regiones del cerebro de pacientes con esquizofrenia siendo solo significativa en la protuberancia⁽¹⁰⁴⁾. Pero también se han encontrado discrepancias^{(105),(106)}, que posiblemente se pueden explicar por factores de confusión como el sexo, edad, los trazadores PET o métodos de análisis entre otros⁽¹⁰⁷⁾. Con lo cual las alteraciones en la densidad y expresión del rCB1 están relacionadas con la esquizofrenia aunque los resultados aún no son del todo concluyentes, con lo que una investigación adicional podría ayudar a comprender las posibles consecuencias de estas irregularidades.

A nivel genético, los polimorfismos de *CNR1* que han mostrado asociaciones significativas con la esquizofrenia son rs7766029, rs806366 y rs1049353 (83), algunos otros estudios no encontraron vinculación de genes con este

trastorno^{(108),(109)}. Estas discrepancias ponen de manifiesto la complejidad y heterogeneidad de la esquizofrenia, no obstante, algunos polimorfismos *CNR1* sí se han asociado con la respuesta terapéutica; un estudio en pacientes con un primer episodio de psicosis demostró una asociación del genotipo TT del polimorfismo *CNR1* rs2023239 con mejoras significativas en los síntomas positivos y negativos⁽¹¹⁰⁾. También, Tiwari y colaboradores observaron una asociación entre el polimorfismo *CNR1* rs806378 y el aumento de peso como consecuencia del tratamiento antipsicótico⁽¹¹¹⁾, y estos datos son relevantes a la hora de buscar posibles estrategias farmacogenéticas para mejorar el tratamiento farmacológico de esquizofrenia.

rCB2

Estudios en animales (preclínicos)

En los últimos años el rCB2 también se ha involucrado recientemente en la esquizofrenia, aunque existen menos evidencias científicas. Se ha visto que la eliminación de rCB2 induce síntomas similares a los de esquizofrenia en ratones Knockout, en concreto un déficit de PPI, un aumento de las respuestas motoras a la cocaína y un deterioro cognitivo⁽¹¹²⁾. En un estudio se evaluó en dos modelos animales de esquizofrenia inducida por MK-801, la IPP y la actividad locomotora con la administración del antagonista rCB2 AM630. Este antagonista rCB2 incrementó la hiperactividad y la interrupción de la IPP que habían inducido el antagonista NMDA, con lo que el rCB2 interviene en estos resultados⁽¹¹³⁾. También el agonista rCB2 JWH015, revirtió las interrupciones en la PPI inducidas por MK-801 en un modelo animal de esquizofrenia. La administración conjunta de AM630, pero no la de AM251, bloqueó la mejora de la IPP, con lo que el efecto fue mediado por rCB2 concretamente⁽¹¹⁴⁾. Estos resultados hacen evidente la influencia de la regulación funcional de rCB2 en los síntomas de esquizofrenia.

Estudios en humanos (clínicos)

Posiblemente la primera evidencia que midió ARNm de rCB2 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes esquizofrénicos, fue el trabajo de Marchi y colaboradores, donde se informó de una remisión clínica

tras tratamiento con Olanzapina acompañada de una disminución significativa del ARNm de rCB2⁽⁸⁹⁾. A nivel genético, el alelo R63 de rs2501432 (Q63R), el alelo C de rs12744386 y el haplotipo del alelo R63-C aumentaron significativamente en pacientes con esquizofrenia en comparación con sujetos control, además de niveles reducidos de expresión de ARNm y proteína de rCB2 en el cerebro humano con los genotipos CC y CT de rs12744386 en comparación con el genotipo TT⁽¹¹³⁾.

7. CONCLUSIONES

Son muchas las evidencias que hacen incuestionable la relación entre las alteraciones en los componentes del SEC y la etiología, riesgo y neuropatología de los trastornos de ansiedad, los trastornos depresivos, y la esquizofrenia. La información contenida en esta revisión bibliográfica muestra, a nivel general, al SEC como un potencial biomarcador de estos trastornos, lo que abre nuevas posibilidades diagnósticas y terapéuticas a través de una manipulación del SEC, en concreto de los receptores cannabinoides, los CE y de sus enzimas metabólicas, con lo que se han cumplido los objetivos planteados. Se han resumido los hallazgos científicos más relevantes encontrados en estudios, tanto en animales como en humanos, en cuanto a detección y modulación de estos componentes a nivel farmacológico, genético e incluso sanguíneo, y sus efectos en los síntomas de estos trastornos psiquiátricos. De estos datos se obtienen distintas conclusiones (*Figura 2*). En los trastornos emocionales, tanto de ansiedad como depresivos, tanto el bloqueo farmacológico como la delección genética de rCB1 provoca un empeoramiento de los síntomas, mientras que su activación los mejora. Al contrario sucede en la esquizofrenia, donde el bloqueo farmacológico produce efectos antipsicóticos y la activación causa síntomas psicóticos. En el caso del rCB2, su activación parece mejorar los síntomas tanto de los trastornos emocionales como de la esquizofrenia. El bloqueo del receptor en esta última empeoran los comportamientos similares a psicóticos. A nivel genético, su delección también parece empeorar los síntomas de estos trastornos, mientras que su sobreexpresión mejora los comportamientos emocionales. Por último, en cuanto a los niveles de EC, su aumento a través de la inhibición de sus

enzimas metabólicas FAAH y MAGL, ha demostrado mejorar los síntomas tanto en los trastornos de ansiedad como en los trastornos depresivos. Se incluye la modulación farmacológica de inhibición dual de FAAH y rPTCV-1 que mejora los síntomas de ansiedad, y la de FAAH y MAGL, que ha demostrado mejorar los de depresión. En el caso de la esquizofrenia se han medido sus niveles en sangre y LCR, en concreto los de AEA, dando resultados de aumento en pacientes esquizofrénicos. Como conclusión final, a pesar de la complejidad de los mecanismos e interacciones del SEC con otros sistemas, las nuevas oportunidades que brinda su modulación invitan a continuar estudiando los posibles biomarcadores existentes entre sus componentes, dilucidando aún más la información hasta ahora conocida, en especial con estudios en humanos, donde la información disponible es aún escasa en comparación con los estudios con animales, con el fin de optimizar el diagnóstico y tratamiento de los trastornos psiquiátricos.

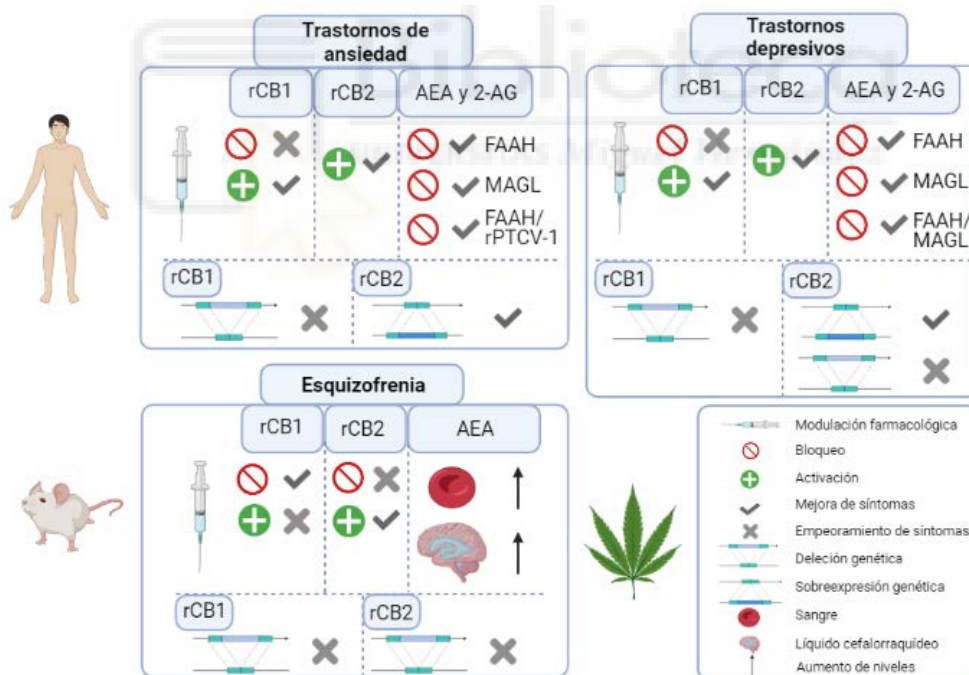


Figura 2. Conclusiones de la modulación genética y farmacológica, y de niveles de los componentes del SEC en los trastornos de ansiedad, los trastornos depresivos y la esquizofrenia. AEA: Anandamida, MAGL: enzima monoacilglicerol lipasa, 2-AG: 2-araquidonilglicerol, FAAH: enzima amida hidrolasa de ácidos grasos, rCB1/rCB2: receptor cannabinoide 1 y 2. Figura realizada con Biorender, adaptada de Navarrete et al, 2020⁽⁴⁾.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garcia-Gutierrez MS, Navarrete F, Sala F, Gasparyan A, Austrich-Olivares A, Manzanares J. Biomarkers in Psychiatry: Concept, Definition, Types and Relevance to the Clinical Reality. *Frontiers in psychiatry*. 2020;11:432. Epub 2020/06/06.
2. Ibarra-Lecue I, Pilar-Cuellar F, Muguruza C, Florensa-Zanuy E, Diaz A, Uriguen L, et al. The endocannabinoid system in mental disorders: Evidence from human brain studies. *Biochemical pharmacology*. 2018;157:97-107. Epub 2018/07/22.
3. Romero M. Importancia de la carga de enfermedad debida a factores ambientales. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología [Internet]*. 2014;52(2):149-51. Epub 08/2014.
4. Navarrete F, Garcia-Gutierrez MS, Jurado-Barba R, Rubio G, Gasparyan A, Austrich-Olivares A, et al. Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. *Frontiers in psychiatry*. 2020;11:315. Epub 2020/05/13.
5. Kirkpatrick RH, Munoz DP, Khalid-Khan S, Booij L. Methodological and clinical challenges associated with biomarkers for psychiatric disease: A scoping review. *Journal of psychiatric research*. 2021;143:572-9. Epub 2020/11/23.
6. Singh S, Roy D, Sinha K, Parveen S, Sharma G, Joshi G. Impact of COVID-19 and lockdown on mental health of children and adolescents: A narrative review with recommendations. *Psychiatry research*. 2020;293:113429. Epub 2020/09/04.
7. Guessoum SB, Lachal J, Radjack R, Carretier E, Minassian S, Benoit L, et al. Adolescent psychiatric disorders during the COVID-19 pandemic and lockdown. *Psychiatry research*. 2020;291:113264. Epub 2020/07/06.
8. Patel S, Hill MN, Cheer JF, Wotjak CT, Holmes A. The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2017;76(Pt A):56-66. Epub 2017/04/25.
9. Joshi N, Onaivi ES. Psychiatric Disorders and Cannabinoid Receptors. *Advances in experimental medicine and biology*. 2021;1264:131-53. Epub 2020/12/18.
10. Rubino T, Zamberletti E, Parolaro D. Endocannabinoids and Mental Disorders. *Handbook of experimental pharmacology*. 2015;231:261-83. Epub 2015/09/27.
11. Bedse G, Bluett RJ, Patrick TA, Romness NK, Gaulden AD, Kingsley PJ, et al. Therapeutic endocannabinoid augmentation for mood and anxiety disorders: comparative profiling of FAAH, MAGL and dual inhibitors. *Translational psychiatry*. 2018;8(1):92. Epub 2018/04/27.
12. Robson PJ, Guy GW, Di Marzo V. Cannabinoids and schizophrenia: therapeutic prospects. *Current pharmaceutical design*. 2014;20(13):2194-204. Epub 2013/07/09.
13. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W. The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(17). Epub 2021/09/11.

14. Joshi N, Onaivi ES. Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. *Advances in experimental medicine and biology*. 2019;1162:1-12. Epub 2019/07/25.
15. Cabral GA, Griffin-Thomas L. Emerging role of the cannabinoid receptor CB2 in immune regulation: therapeutic prospects for neuroinflammation. *Expert Rev Mol Med*. 2009;11:e3. Epub 2009/01/21.
16. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem*. 1995;232(1):54-61. Epub 1995/08/15.
17. Benito C, Nunez E, Tolon RM, Carrier EJ, Rabano A, Hillard CJ, et al. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2003;23(35):11136-41. Epub 2003/12/06.
18. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*. 2005;310(5746):329-32. Epub 2005/10/15.
19. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Perchuk A, Meozzi PA, et al. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1074:514-36. Epub 2006/11/16.
20. Garcia-Gutierrez MS, Perez-Ortiz JM, Gutierrez-Adan A, Manzanares J. Depression-resistant endophenotype in mice overexpressing cannabinoid CB(2) receptors. *British journal of pharmacology*. 2010;160(7):1773-84. Epub 2010/07/24.
21. Garcia-Gutierrez MS, Navarrete F, Navarro G, Reyes-Resina I, Franco R, Lanciego JL, et al. Alterations in Gene and Protein Expression of Cannabinoid CB2 and GPR55 Receptors in the Dorsolateral Prefrontal Cortex of Suicide Victims. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2018;15(3):796-806. Epub 2018/02/13.
22. Association AP. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)*, 5th edition. 2013.
23. Navarria A, Tamburella A, Iannotti FA, Micale V, Camillieri G, Gozzo L, et al. The dual blocker of FAAH/TRPV1 N-arachidonoylserotonin reverses the behavioral despair induced by stress in rats and modulates the HPA-axis. *Pharmacological research*. 2014;87:151-9. Epub 2014/05/28.
24. Kathuria S, Gaetani S, Fegley D, Valino F, Duranti A, Tontini A, et al. Modulation of anxiety through blockade of anandamide hydrolysis. *Nature medicine*. 2003;9(1):76-81. Epub 2002/12/04.
25. Lomazzo E, Bindila L, Remmers F, Lerner R, Schwitter C, Hoheisel U, et al. Therapeutic potential of inhibitors of endocannabinoid degradation for the treatment of stress-related hyperalgesia in an animal model of chronic pain. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2015;40(2):488-501. Epub 2014/08/08.
26. Rademacher DJ, Meier SE, Shi L, Ho WS, Jarrahan A, Hillard CJ. Effects of acute and repeated restraint stress on endocannabinoid content in

the amygdala, ventral striatum, and medial prefrontal cortex in mice. *Neuropharmacology*. 2008;54(1):108-16. Epub 2007/08/07.

27. Neumeister A, Normandin MD, Pietrzak RH, Piomelli D, Zheng MQ, Gujarro-Anton A, et al. Elevated brain cannabinoid CB1 receptor availability in post-traumatic stress disorder: a positron emission tomography study. *Molecular psychiatry*. 2013;18(9):1034-40. Epub 2013/05/15.

28. Hariri AR, Gorka A, Hyde LW, Kimak M, Halder I, Ducci F, et al. Divergent effects of genetic variation in endocannabinoid signaling on human threat- and reward-related brain function. *Biological psychiatry*. 2009;66(1):9-16. Epub 2008/12/24.

29. Lazary J, Eszlari N, Juhasz G, Bagdy G. Genetically reduced FAAH activity may be a risk for the development of anxiety and depression in persons with repetitive childhood trauma. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2016;26(6):1020-8. Epub 2016/03/24.

30. Bosch-Bouju C, Larrieu T, Linders L, Manzoni OJ, Laye S. Endocannabinoid-Mediated Plasticity in Nucleus Accumbens Controls Vulnerability to Anxiety after Social Defeat Stress. *Cell reports*. 2016;16(5):1237-42. Epub 2016/07/28.

31. Imperatore R, Morello G, Luongo L, Taschler U, Romano R, De Gregorio D, et al. Genetic deletion of monoacylglycerol lipase leads to impaired cannabinoid receptor CB(1)R signaling and anxiety-like behavior. *Journal of neurochemistry*. 2015;135(4):799-813. Epub 2015/08/01.

32. Hill MN, Bierer LM, Makotkine I, Golier JA, Galea S, McEwen BS, et al. Reductions in circulating endocannabinoid levels in individuals with post-traumatic stress disorder following exposure to the World Trade Center attacks. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(12):2952-61. Epub 2013/09/17.

33. Yi B, Nichiporuk I, Nicolas M, Schneider S, Feuerecker M, Vassilieva G, et al. Reductions in circulating endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol levels in healthy human subjects exposed to chronic stressors. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2016;67:92-7. Epub 2016/01/19.

34. Rey AA, Purrio M, Viveros MP, Lutz B. Biphasic effects of cannabinoids in anxiety responses: CB1 and GABA(B) receptors in the balance of GABAergic and glutamatergic neurotransmission. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2012;37(12):2624-34. Epub 2012/08/02.

35. Moreira FA, Aguiar DC, Guimaraes FS. Anxiolytic-like effect of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. *Neuropharmacology*. 2007;52(3):958-65. Epub 2006/12/13.

36. Batista LA, Moreira FA. Cannabinoid CB1 receptors mediate the anxiolytic effects induced by systemic alprazolam and intra-periaqueductal gray 5-HT1A receptor activation. *Neuroscience letters*. 2019;703:5-10. Epub 2019/03/13.

37. Garcia-Gutierrez MS, Manzanares J. The cannabinoid CB1 receptor is involved in the anxiolytic, sedative and amnesic actions of benzodiazepines. *J Psychopharmacol*. 2010;24(5):757-65. Epub 2009/10/15.

38. Lu AT, Ogdie MN, Jarvelin MR, Moilanen IK, Loo SK, McCracken JT, et al. Association of the cannabinoid receptor gene (CNR1) with ADHD and post-

- traumatic stress disorder. *American journal of medical genetics Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*. 2008;147B(8):1488-94. Epub 2008/01/24.
39. Rodriguez-Arias M, Navarrete F, Blanco-Gandia MC, Arenas MC, Aguilar MA, Bartoll-Andres A, et al. Role of CB2 receptors in social and aggressive behavior in male mice. *Psychopharmacology*. 2015;232(16):3019-31. Epub 2015/04/30.
40. Garcia-Gutierrez MS, Manzanares J. Overexpression of CB2 cannabinoid receptors decreased vulnerability to anxiety and impaired anxiolytic action of alprazolam in mice. *J Psychopharmacol*. 2011;25(1):111-20. Epub 2010/09/15.
41. Lazary J, Eszlari N, Juhasz G, Bagdy G. A functional variant of CB2 receptor gene interacts with childhood trauma and FAAH gene on anxious and depressive phenotypes. *Journal of affective disorders*. 2019;257:716-22. Epub 2019/08/06.
42. Organization WH. Depression. World Health Organization. 2021.
43. Rana T, Behl T, Sehgal A, Mehta V, Singh S, Kumar R, et al. Integrating Endocannabinoid Signalling In Depression. *Journal of molecular neuroscience : MN*. 2021;71(10):2022-34. Epub 2021/01/21.
44. Gorzalka BB, Hill MN. Putative role of endocannabinoid signaling in the etiology of depression and actions of antidepressants. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2011;35(7):1575-85. Epub 2010/11/30.
45. Mangieri RA, Piomelli D. Enhancement of endocannabinoid signaling and the pharmacotherapy of depression. *Pharmacological research*. 2007;56(5):360-6. Epub 2007/10/20.
46. Vinod KY, Xie S, Psychoyos D, Hungund BL, Cooper TB, Tejani-Butt SM. Dysfunction in fatty acid amide hydrolase is associated with depressive-like behavior in Wistar Kyoto rats. *PloS one*. 2012;7(5):e36743. Epub 2012/05/19.
47. Gobbi G, Bambico FR, Mangieri R, Bortolato M, Campolongo P, Solinas M, et al. Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(51):18620-5. Epub 2005/12/15.
48. Realini N, Vigano D, Guidali C, Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D. Chronic URB597 treatment at adulthood reverted most depressive-like symptoms induced by adolescent exposure to THC in female rats. *Neuropharmacology*. 2011;60(2-3):235-43. Epub 2010/09/21.
49. Zhang Z, Wang W, Zhong P, Liu SJ, Long JZ, Zhao L, et al. Blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces antidepressant-like effects and enhances adult hippocampal neurogenesis and synaptic plasticity. *Hippocampus*. 2015;25(1):16-26. Epub 2014/08/19.
50. Dong B, Shilpa BM, Shah R, Goyal A, Xie S, Bakalian MJ, et al. Dual pharmacological inhibitor of endocannabinoid degrading enzymes reduces depressive-like behavior in female rats. *Journal of psychiatric research*. 2020;120:103-12. Epub 2019/10/28.

51. Hill MN, Miller GE, Ho WS, Gorzalka BB, Hillard CJ. Serum endocannabinoid content is altered in females with depressive disorders: a preliminary report. *Pharmacopsychiatry*. 2008;41(2):48-53. Epub 2008/03/04.
52. Hill MN, Miller GE, Carrier EJ, Gorzalka BB, Hillard CJ. Circulating endocannabinoids and N-acyl ethanolamines are differentially regulated in major depression and following exposure to social stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(8):1257-62. Epub 2009/04/28.
53. Monteleone P, Bifulco M, Maina G, Tortorella A, Gazzo P, Proto MC, et al. Investigation of CNR1 and FAAH endocannabinoid gene polymorphisms in bipolar disorder and major depression. *Pharmacological research*. 2010;61(5):400-4. Epub 2010/01/19.
54. Shollenbarger SG, Price J, Wieser J, Lisdahl K. Poorer frontolimbic white matter integrity is associated with chronic cannabis use, FAAH genotype, and increased depressive and apathy symptoms in adolescents and young adults. *NeuroImage Clinical*. 2015;8:117-25. Epub 2015/06/25.
55. Witkin JM, Tzavara ET, Nomikos GG. A role for cannabinoid CB1 receptors in mood and anxiety disorders. *Behavioural pharmacology*. 2005;16(5-6):315-31. Epub 2005/09/09.
56. Shearman LP, Rosko KM, Fleischer R, Wang J, Xu S, Tong XS, et al. Antidepressant-like and anorectic effects of the cannabinoid CB1 receptor inverse agonist AM251 in mice. *Behavioural pharmacology*. 2003;14(8):573-82. Epub 2003/12/11.
57. Griebel G, Stemmelin J, Scatton B. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant in models of emotional reactivity in rodents. *Biological psychiatry*. 2005;57(3):261-7. Epub 2005/02/05.
58. Segev A, Rubin AS, Abush H, Richter-Levin G, Akirav I. Cannabinoid receptor activation prevents the effects of chronic mild stress on emotional learning and LTP in a rat model of depression. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2014;39(4):919-33. Epub 2013/10/22.
59. Morrish AC, Hill MN, Riebe CJ, Gorzalka BB. Protracted cannabinoid administration elicits antidepressant behavioral responses in rats: role of gender and noradrenergic transmission. *Physiology & behavior*. 2009;98(1-2):118-24. Epub 2009/05/06.
60. Vinod KY, Hungund BL. Cannabinoid-1 receptor: a novel target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2006;10(2):203-10. Epub 2006/03/22.
61. McLaughlin RJ, Hill MN, Morrish AC, Gorzalka BB. Local enhancement of cannabinoid CB1 receptor signalling in the dorsal hippocampus elicits an antidepressant-like effect. *Behavioural pharmacology*. 2007;18(5-6):431-8. Epub 2007/09/01.
62. Shen CJ, Zheng D, Li KX, Yang JM, Pan HQ, Yu XD, et al. Cannabinoid CB1 receptors in the amygdalar cholecystokinin glutamatergic afferents to nucleus accumbens modulate depressive-like behavior. *Nature medicine*. 2019;25(2):337-49. Epub 2019/01/16.
63. Wang W, Sun D, Pan B, Roberts CJ, Sun X, Hillard CJ, et al. Deficiency in endocannabinoid signaling in the nucleus accumbens induced by chronic unpredictable stress. *Neuropsychopharmacology : official publication of the*

American College of Neuropsychopharmacology. 2010;35(11):2249-61. Epub 2010/07/29.

64. Hill MN, Ho WS, Hillard CJ, Gorzalka BB. Differential effects of the antidepressants tranylcypromine and fluoxetine on limbic cannabinoid receptor binding and endocannabinoid contents. *J Neural Transm (Vienna)*. 2008;115(12):1673-9. Epub 2008/11/01.

65. Hungund BL, Vinod KY, Kassir SA, Basavarajappa BS, Yalamanchili R, Cooper TB, et al. Upregulation of CB1 receptors and agonist-stimulated [35S]GTPgammaS binding in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Molecular psychiatry*. 2004;9(2):184-90. Epub 2004/02/18.

66. Choi K, Le T, McGuire J, Xing G, Zhang L, Li H, et al. Expression pattern of the cannabinoid receptor genes in the frontal cortex of mood disorder patients and mice selectively bred for high and low fear. *Journal of psychiatric research*. 2012;46(7):882-9. Epub 2012/04/27.

67. Rodriguez-Munoz M, Sanchez-Blazquez P, Callado LF, Meana JJ, Garzon-Nino J. Schizophrenia and depression, two poles of endocannabinoid system deregulation. *Translational psychiatry*. 2017;7(12):1291. Epub 2017/12/19.

68. Juhasz G, Chase D, Pegg E, Downey D, Toth ZG, Stones K, et al. CNR1 gene is associated with high neuroticism and low agreeableness and interacts with recent negative life events to predict current depressive symptoms. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2009;34(8):2019-27. Epub 2009/02/27.

69. Agrawal A, Nelson EC, Littlefield AK, Bucholz KK, Degenhardt L, Henders AK, et al. Cannabinoid receptor genotype moderation of the effects of childhood physical abuse on anhedonia and depression. *Archives of general psychiatry*. 2012;69(7):732-40. Epub 2012/03/07.

70. Domschke K, Dannlowski U, Ohrmann P, Lawford B, Bauer J, Kugel H, et al. Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene: impact on antidepressant treatment response and emotion processing in major depression. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2008;18(10):751-9. Epub 2008/06/27.

71. Mitjans M, Serretti A, Fabbri C, Gasto C, Catalan R, Fananas L, et al. Screening genetic variability at the CNR1 gene in both major depression etiology and clinical response to citalopram treatment. *Psychopharmacology*. 2013;227(3):509-19. Epub 2013/02/15.

72. Barrero FJ, Ampuero I, Morales B, Vives F, de Dios Luna Del Castillo J, Hoenicka J, et al. Depression in Parkinson's disease is related to a genetic polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1). *The pharmacogenomics journal*. 2005;5(2):135-41. Epub 2005/01/26.

73. Icick R, Peoc'h K, Karsinti E, Ksouda K, Hajj A, Bloch V, et al. A cannabinoid receptor 1 polymorphism is protective against major depressive disorder in methadone-maintained outpatients. *The American journal on addictions*. 2015;24(7):613-20. Epub 2015/09/04.

74. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L, et al. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS one*. 2008;3(2):e1640. Epub 2008/02/21.

75. Hu B, Doods H, Treede RD, Ceci A. Depression-like behaviour in rats with mononeuropathy is reduced by the CB2-selective agonist GW405833. *Pain*. 2009;143(3):206-12. Epub 2009/04/07.
76. Wang S, Sun H, Liu S, Wang T, Guan J, Jia J. Role of hypothalamic cannabinoid receptors in post-stroke depression in rats. *Brain research bulletin*. 2016;121:91-7. Epub 2016/01/19.
77. Kong X, Miao Q, Lu X, Zhang Z, Chen M, Zhang J, et al. The association of endocannabinoid receptor genes (CNR1 and CNR2) polymorphisms with depression: A meta-analysis. *Medicine*. 2019;98(46):e17403. Epub 2019/11/15.
78. Mitjans M, Gasto C, Catalan R, Fananas L, Arias B. Genetic variability in the endocannabinoid system and 12-week clinical response to citalopram treatment: the role of the CNR1, CNR2 and FAAH genes. *J Psychopharmacol*. 2012;26(10):1391-8. Epub 2012/07/25.
79. Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB. Schizophrenia. *Lancet*. 2016;388(10039):86-97. Epub 2016/01/19.
80. Marder SR, Cannon TD. Schizophrenia. *The New England journal of medicine*. 2019;381(18):1753-61. Epub 2019/10/31.
81. Kahn RS, Sommer IE, Murray RM, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR, Cannon TD, et al. Schizophrenia. *Nature reviews Disease primers*. 2015;1:15067. Epub 2015/01/01.
82. Organization WH. Schizophrenia. World Health Organization. 2022.
83. Costa M, Squassina A, Congiu D, Chillotti C, Niola P, Galderisi S, et al. Investigation of endocannabinoid system genes suggests association between peroxisome proliferator activator receptor-alpha gene (PPARA) and schizophrenia. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2013;23(7):749-59. Epub 2012/08/28.
84. Vigano D, Guidali C, Petrosino S, Realini N, Rubino T, Di Marzo V, et al. Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. *The international journal of neuropsychopharmacology*. 2009;12(5):599-614. Epub 2008/09/16.
85. Seillier A, Martinez AA, Giuffrida A. Phencyclidine-induced social withdrawal results from deficient stimulation of cannabinoid CB(1) receptors: implications for schizophrenia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2013;38(9):1816-24. Epub 2013/04/09.
86. Eisenstein SA, Clapper JR, Holmes PV, Piomelli D, Hohmann AG. A role for 2-arachidonoylglycerol and endocannabinoid signaling in the locomotor response to novelty induced by olfactory bulbectomy. *Pharmacological research*. 2010;61(5):419-29. Epub 2010/01/02.
87. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*. 1999;10(8):1665-9. Epub 1999/09/29.
88. Leweke FM, Giuffrida A, Koethe D, Schreiber D, Nolden BM, Kranaster L, et al. Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of cannabis use. *Schizophrenia research*. 2007;94(1-3):29-36. Epub 2007/06/15.

89. De Marchi N, De Petrocellis L, Orlando P, Daniele F, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids in health and disease*. 2003;2:5. Epub 2003/09/13.
90. Muguruza C, Morentin B, Meana JJ, Alexander SP, Callado LF. Endocannabinoid system imbalance in the postmortem prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Psychopharmacol*. 2019;33(9):1132-40. Epub 2019/06/27.
91. Volk DW, Siegel BI, Verrico CD, Lewis DA. Endocannabinoid metabolism in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2013;147(1):53-7. Epub 2013/04/09.
92. Braff DL. Prepulse inhibition of the startle reflex: a window on the brain in schizophrenia. *Current topics in behavioral neurosciences*. 2010;4:349-71. Epub 2011/02/12.
93. Mansbach RS, Rovetti CC, Winston EN, Lowe JA, 3rd. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A on the behavior of pigeons and rats. *Psychopharmacology*. 1996;124(4):315-22. Epub 1996/04/01.
94. Hajos M, Hoffmann WE, Kocsis B. Activation of cannabinoid-1 receptors disrupts sensory gating and neuronal oscillation: relevance to schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2008;63(11):1075-83. Epub 2008/02/12.
95. Lee G, Zhou Y. NMDAR Hypofunction Animal Models of Schizophrenia. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2019;12:185. Epub 2019/08/17.
96. Black MD, Stevens RJ, Rogacki N, Featherstone RE, Senyah Y, Giardino O, et al. AVE1625, a cannabinoid CB1 receptor antagonist, as a co-treatment with antipsychotics for schizophrenia: improvement in cognitive function and reduction of antipsychotic-side effects in rodents. *Psychopharmacology*. 2011;215(1):149-63. Epub 2010/12/25.
97. Kruk-Slomka M, Budzynska B, Slomka T, Banaszekiewicz I, Biala G. The Influence of the CB1 Receptor Ligands on the Schizophrenia-Like Effects in Mice Induced by MK-801. *Neurotoxicity research*. 2016;30(4):658-76. Epub 2016/09/01.
98. Szucs E, Dvoracsko S, Tomboly C, Buki A, Kekesi G, Horvath G, et al. Decreased CB receptor binding and cannabinoid signaling in three brain regions of a rat model of schizophrenia. *Neuroscience letters*. 2016;633:87-93. Epub 2016/10/22.
99. Almeida V, Levin R, Peres FF, Suíama MA, Vendramini AM, Santos CM, et al. Role of the endocannabinoid and endovanilloid systems in an animal model of schizophrenia-related emotional processing/cognitive deficit. *Neuropharmacology*. 2019;155:44-53. Epub 2019/05/20.
100. Volk DW, Eggen SM, Horti AG, Wong DF, Lewis DA. Reciprocal alterations in cortical cannabinoid receptor 1 binding relative to protein immunoreactivity and transcript levels in schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2014;159(1):124-9. Epub 2014/08/12.
101. Zavitsanou K, Garrick T, Huang XF. Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2004;28(2):355-60. Epub 2004/01/31.

102. Newell KA, Deng C, Huang XF. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Experimental brain research*. 2006;172(4):556-60. Epub 2006/05/20.
103. Ceccarini J, De Hert M, Van Winkel R, Peuskens J, Bormans G, Kranaster L, et al. Increased ventral striatal CB1 receptor binding is related to negative symptoms in drug-free patients with schizophrenia. *NeuroImage*. 2013;79:304-12. Epub 2013/04/30.
104. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, Raymont V, Brasic J, Guevara M, et al. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [¹¹C]OMAR. *NeuroImage*. 2010;52(4):1505-13. Epub 2010/04/22.
105. Ranganathan M, Skosnik PD, D'Souza DC. Marijuana and Madness: Associations Between Cannabinoids and Psychosis. *Biological psychiatry*. 2016;79(7):511-3. Epub 2016/03/13.
106. Ranganathan M, Cortes-Briones J, Radhakrishnan R, Thurnauer H, Planeta B, Skosnik P, et al. Reduced Brain Cannabinoid Receptor Availability in Schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2016;79(12):997-1005. Epub 2015/10/04.
107. Mihov Y. Positron Emission Tomography Studies on Cannabinoid Receptor Type 1 in Schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2016;79(12):e97-9. Epub 2016/06/01.
108. Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ. Association study of a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and schizophrenia. *Psychiatric genetics*. 2000;10(3):149-51. Epub 2001/02/24.
109. Bae JS, Kim JY, Park BL, Kim JH, Kim B, Park CS, et al. Genetic association analysis of CNR1 and CNR2 polymorphisms with schizophrenia in a Korean population. *Psychiatric genetics*. 2014;24(5):225-9. Epub 2014/07/12.
110. Suarez-Pinilla P, Roiz-Santianez R, Ortiz-Garcia de la Foz V, Guest PC, Ayesa-Arriola R, Cordova-Palomera A, et al. Brain structural and clinical changes after first episode psychosis: Focus on cannabinoid receptor 1 polymorphisms. *Psychiatry research*. 2015;233(2):112-9. Epub 2015/06/15.
111. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Lisker A, Singh D, Souza RP, et al. A common polymorphism in the cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene is associated with antipsychotic-induced weight gain in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2010;35(6):1315-24. Epub 2010/01/29.
112. Ortega-Alvaro A, Aracil-Fernandez A, Garcia-Gutierrez MS, Navarrete F, Manzanares J. Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2011;36(7):1489-504. Epub 2011/03/25.
113. Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, et al. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2010;67(10):974-82. Epub 2009/11/26.
114. Khella R, Short JL, Malone DT. CB2 receptor agonism reverses MK-801-induced disruptions of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology*. 2014;231(16):3071-87. Epub 2014/04/08.