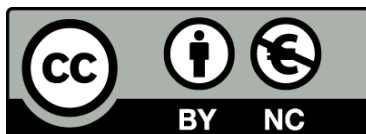




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Impacto del consumo de cannabis y la variabilidad genética de los receptores cannabinoides en las características clínicas, la cognición y la neuroimagen funcional en primeros episodios psicóticos

Maitane Oscoz Irurozqui



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial 4.0. Espanya de Creative Commons**.

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial 4.0. España de Creative Commons**.

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0. Spain License**.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Impacto del consumo de cannabis y la variabilidad genética de los receptores cannabinoides en las características clínicas, la cognición y la neuroimagen funcional en primeros episodios psicóticos

Memoria de tesis doctoral presentada por Maitane Oscoz Irurozqui para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por

Dra. Mar Fatjó-Vilas

FIDMAG Germanes Hospitalàries Research Foundation
Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM)
Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia,
Universitat de Barcelona

Dra. Edith Pomarol Clotet

FIDMAG Germanes Hospitalàries Research Foundation
Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM)

Tutorizada por

Dra. M^a Luisa Lázaro García

Servei de Psiquiatria i Psicologia Infantil i Juvenil del Hospital Clínic
Departament de Medicina, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona

Programa de Doctorado Medicina e Investigación Traslacional

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona

Enero de 2025

AGRADECIMIENTOS

Hace ya unos cuantos años, tuve la fortuna de conocer durante mi rotación de residente de Investigación en FIDMAG a una gran investigadora, que me animó a profundizar en mi curiosidad por la Genética y me dio la oportunidad de formar parte de su equipo para embarcarme en este trabajo de tesis. Desde estas líneas quiero mostrarle mi gratitud por toda la ciencia que he aprendido de su mano, pero, sobre todo, por haberme enseñado la importancia del trabajo en equipo, la perseverancia, y la presencia, adaptándose a las circunstancias que la distancia y la vida ha ido interponiendo en este camino. Moltes gràcies, Mar.

Mi agradecimiento también al resto del equipo de FIDMAG. Gracias Edith por tu ayuda y confianza. Especial mención a Carmen y Maria, que han estado ahí desde el inicio, siempre disponibles para echar una mano en los diversos estados del proceso. Ejemplos de rigor científico e inteligencia.

Muchas gracias a los pacientes, familias y voluntarios que de forma desinteresada fomentan el avance del conocimiento científico, por su ejemplaridad. La sanidad pública es un bien que tenemos que cuidar entre todas y todos.

Gracias a los amigos de la residencia, de los que a causa de este proyecto con base en Barcelona he podido mantenerme más cerca y tengo la suerte de mantener en mi vida. A Georgia, por su generosidad y sabios consejos. A Valentín y Sebastián, por lo compartido. A Mariana y a Teresa, por su escucha. A Kima y a Lorea, por tantas cosas. A María, por su amistad en la distancia. A los tutores y resis del Menni y de Granollers, a los amigos de Pamplona y Noáin, gracias por vuestro sostén.

Finalmente, gracias a mi familia. A Mariaje, Miguel, Marina y Lucas. A Aritz. Eskerrik asko Joanes, ni horrela maitatzeagatik. Gracias Aiur por haberme permitido dedicar estos últimos meses a la tesis y haberme acompañado de esa manera tan especial. Y, sobre todo, a mis padres, por su apoyo incondicional, su ejemplo, y su esfuerzo, que han permitido que pueda haber llegado hasta aquí. Me conformaría con ser la mitad de buena madre que vosotros sois conmigo.

FINANCIACIÓN

Esta tesis se ha realizado gracias a las siguientes fuentes de financiación:

- Instituto de Salud Carlos III (Proyectos de Investigación en Salud PI14/01151, PI14/01148, PI15/01420, PI18/01535 and PI18/00810)
- Centro de Investigación Biomédica en Red en Salud Mental (CIBERSAM)
- Comissionat per a Universitats i Recerca del DIUE de la Generalitat de Catalunya (Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR, 2017SGR1271 y 2021SGR1475)

Las fuentes de financiación no desempeñaron ningún papel en el diseño de este proyecto, la recopilación, análisis o interpretación de los datos, o publicación.

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	1
ENUMERACIÓN DE ARTÍCULOS	5
RESUMEN DE LA TESIS	7
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Trastornos psicóticos: desde la etiología a la presentación clínica	17
1.2. Cannabis como factor de riesgo para el desarrollo de trastornos psicóticos	22
1.2.1. Consumo de cannabis: prevalencia y tendencias de consumo en un contexto legislativo cambiante	22
1.2.2. Evidencias de asociación entre el consumo de cannabis y los trastornos psicóticos	23
1.3. Sistema endocannabinoide: mediador de los efectos del cannabis en nuestro organismo	25
1.3.1. Estructura del sistema endocannabinoide	25
1.3.2. Relación del sistema endocannabinoide con los trastornos psicóticos	27
1.3.3. Cambios del sistema endocannabinoide en trastornos psicóticos	28
1.4. Bases genéticas de los trastornos psicóticos	30
1.4.1. Componente genético de los trastornos psicóticos	30
1.4.2. Interacción gen-ambiente en la comprensión de la relación entre el uso de cannabis y los trastornos psicóticos	32
1.4.3. Variabilidad genética de los receptores cannabinoides y riesgo de trastornos psicóticos asociado	34
1.5. Cannabis y variabilidad genética en receptores del sistema endocannabinoide: efectos sobre la heterogeneidad clínica	36
1.5.1. Efecto del consumo de cannabis sobre los síntomas psicóticos	36
1.5.2. Efecto de la variabilidad genética de <i>CNR1</i> y <i>CNR2</i> sobre los síntomas psicóticos	38
1.5.3. Interacción del consumo de cannabis y genes <i>CNR1</i> y <i>CNR2</i> sobre los síntomas psicóticos	39
1.6. Cannabis y variabilidad genética en receptores del sistema endocannabinoide: efectos sobre el rendimiento cognitivo y sus correlatos neurobiológicos	40
1.6.1. Efecto del consumo de cannabis sobre la función cognitiva	40

1.6.2. Efecto del consumo de cannabis sobre la actividad cerebral.....	42
1.6.3. Efecto de la variabilidad genética de <i>CNR1</i> y <i>CNR2</i> sobre la cognición y la actividad cerebral.....	45
1.6.4. Interacción del consumo de cannabis y genes <i>CNR1</i> y <i>CNR2</i> sobre la cognición y la activación cerebral.....	47
2. HIPÓTESIS.....	50
3. OBJETIVOS.....	55
4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS.....	59
ARTÍCULO I	61
ARTÍCULO II	72
5. DISCUSIÓN	89
5.1. Contexto y resumen de los principales resultados de la tesis.....	91
5.2. Análisis de los principales resultados de la tesis con relación a las evidencias actuales	92
5.2.1. Efecto del consumo de cannabis sobre el perfil sintomático, cognitivo y de actividad cerebral en la psicosis.....	92
5.2.2. Efecto de la variabilidad genética sobre los síntomas psicóticos, la función cognitiva y la activación cerebral	98
5.2.3. Efecto de la interacción del consumo de cannabis y la variabilidad genética sobre los síntomas psicóticos, la cognición y la actividad cerebral	100
5.3. Puntos fuertes, limitaciones y direcciones futuras.....	104
6. CONCLUSIONES	109
7. BIBLIOGRAFÍA.....	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo del neurodesarrollo de la esquizofrenia	18
Figura 2. Modelo diátesis-estrés de la esquizofrenia	19
Figura 3. Señalización del sistema endocannabinoide en neuronas y astrocitos	27
Figura 4. Convergencia de la dopamina y los endocannabinoides en el área tegmental ventral	28
Figura 5. Diseño de la tarea n-back	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia	20
Tabla 2. Estudios sobre las alteraciones de los diferentes componentes del sistema endocannabinoide en el cerebro en pacientes con esquizofrenia	30

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

2-AG: 2 araquidonilglicerol

AEA: araquidonoiletanolamida o anandamida

AKT1: serina/treonina quinasa 1 (gen codificante)

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

BACS: Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia / evaluación breve de la cognición en la esquizofrenia

BADS: Behavioural Assessment of Dysexecutive Syndrome / evaluación conductual del síndrome disejecutivo

CB1: receptor cannabinoide tipo 1

CB2: receptor cannabinoide tipo 2

CBD: cannabidiol

CNR1: Cannabinoide Receptor 1 / receptor cannabinoide tipo 1 (gen codificante)

CNR2: Cannabinoide Receptor 2 / receptor cannabinoide tipo 2 (gen codificante)

CNU: cannabis non-users / no consumidores de cannabis

COMT: Catecol-O-Metiltransferasa (gen codificante)

CPZ: clorpromazina

CU: cannabis users / consumidores de cannabis

DA: dopamina

DAGL: diacilglicerol lipasa

CPDL: corteza prefrontal dorsolateral

DSM-5: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition / Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, 5ª edición

FAAH: amida hidrolasa de ácidos grasos

GABA: GABAérgico/a(s)

GAF: Global Assessment of Functioning / evaluación global del funcionamiento

GAS: Global Assessment Scale / escala de evaluación global

GLU: glutamatérgico/a(s)

GWAS: Genome Wide Association Study / estudio de asociación de genoma completo

IQ: Intelligence Quotient / cociente intelectual

MAGL: monoacilglicerol lipasa

MNI: Montreal Neurological Institute coordinates / coordinadas del Instituto Neurológico de Montreal

MT: Memoria de Trabajo

NAPE: N-acil-fosfatidiletanolamina

OR: odds ratio

PANSS: Positive and Negative Syndrome Scale / escala de síndrome positivo y negativo

PEP: primer episodio psicótico

PET: positron emission tomography / tomografía por emisión de positrones

PRS-SZ: Polygenic Risk Score for Schizophrenia / puntuación de riesgo poligénico para esquizofrenia

RMf: resonancia magnética funcional

SCoRS: Schizophrenia Cognition Rating Scale / escala de evaluación cognitiva en esquizofrenia

SEC: sistema endocannabinoide

SNP: Single Nucleotide Polymorphism / polimorfismos de nucleótido único

TAP: Test de Acentuación de la Palabras

THC: Tetrahidrocannabinol

WAIS: Wechsler Adult Intelligence Scale / escala de inteligencia para adultos de Wechsler

WMS: Wechsler Memory Scale / escala de memoria de Wechsler

ENUMERACIÓN DE ARTÍCULOS

La tesis doctoral “Impacto del consumo de cannabis y la variabilidad genética de los receptores cannabinoides en las características clínicas, la cognición y la neuroimagen funcional en primeros episodios psicóticos”, presentada por Maitane Oscoz Irurozqui, es una tesis en formato de compendio de publicaciones. La tesis consta de dos objetivos y se basa en los resultados originales publicados en los dos siguientes artículos:

ARTÍCULO I

Maitane Oscoz-Irurozqui, Carmen Almodóvar-Payá, Maria Guardiola-Ripoll, Amalia Guerrero-Pedraza, Noemí Hostalet, Raymond Salvador, María Isabel Carrión, Teresa Maristany, Edith Pomarol-Clotet, Mar Fatjó-Vilas.

Clinical and cognitive outcomes in first-episode psychosis: focus on the interplay between cannabis use and genetic variability in endocannabinoid receptors.

Frontiers in Psychology, 2024, 15, 1-9.

DOI: 10.3389/fpsyg.2024.1414098. PMID: 39193030

Factor de impacto (JCR 2023): 2,6; Percentil del factor de impacto: 74,7 (Cuartil 2)

ARTÍCULO II

Maitane Oscoz-Irurozqui, Maria Guardiola-Ripoll, Carmen Almodóvar-Payá, Amalia Guerrero-Pedraza, Noemí Hostalet, María Isabel Carrión, Salvador Sarró, JJ Gomar, Edith Pomarol-Clotet, Mar Fatjó-Vilas

Cannabis Use and Endocannabinoid Receptor Genes: A Pilot Study on Their Interaction on Brain Activity in First-Episode Psychosis.

International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24, 1-14.

DOI: 10.3390/ijms24087501. PMID: 37108689

Factor de impacto (JCR 2023): 4,9; Percentil del factor de impacto: 79,1 (Cuartil 1)

RESUMEN DE LA TESIS

Título

Impacto del consumo de cannabis y la variabilidad genética de los receptores cannabinoides en las características clínicas, la cognición y la neuroimagen funcional en primeros episodios psicóticos

Palabras clave

Códigos UNESCO

Descriptor 1: 320000 CIENCIAS MEDICAS

Descriptor 2: 321100 PSIQUIATRIA

Descriptor 3: 240900 GENETICA

Descriptor 4: 221118 RESONANCIA MAGNETICA

Introducción

Diversos estudios de investigación han demostrado la implicación del sistema endocannabinoide en la etiología de los trastornos psicóticos, a través de sus funciones homeostáticas en diferentes sistemas de neurotransmisión. Además, se ha descrito que el consumo de cannabis se asocia con un incremento del riesgo para estos trastornos y que este efecto estaría modulado por la variabilidad genética. Sin embargo, el efecto de dicha modulación genética ha sido mucho menos explorado en relación fenotipos más específicos. Por esta razón, esta tesis se ha centrado en investigar el efecto del cannabis, la variabilidad polimórfica en los genes de los receptores endocannabinoides y su interacción sobre la severidad de los síntomas psicóticos, la función cognitiva y la actividad cerebral en pacientes con un primer episodio de psicosis (PEP).

Hipótesis

La hipótesis general de esta tesis ha sido que la exposición al cannabis y la variabilidad genética en el sistema endocannabinoide, específicamente de los receptores

cannabinoides tipo 1 y 2 (CB1 y CB2), y, tendrán un efecto sobre la heterogeneidad clínica y neurobiológica observada en las primeras etapas del trastorno psicótico.

Objetivos

Los objetivos han sido investigar los efectos del consumo de cannabis, de la variabilidad común en genes de los receptores del sistema endocannabinoide y de su interacción sobre fenotipos clínicos, cognitivos y de actividad cerebral. Estos objetivos se han desarrollado en una muestra de pacientes con primer episodio psicótico, con el fin último de contribuir a la comprensión de las bases fisiopatológicas de la psicosis.

Métodos

Los objetivos se han desarrollado a través de un diseño de casos, en una muestra de 50 sujetos con un PEP (40 sujetos en el caso del estudio de neuroimagen funcional), divididos entre consumidores y no consumidores de cannabis. Se han genotipado dos polimorfismos de nucleótido único (*'Single Nucleotide Polymorphism'*) en el gen del receptor cannabinoide tipo 1 (*CNR1* rs1049353) y el gen del receptor cannabinoide tipo 2 (*CNR2* rs2501431). La severidad de los síntomas y la funcionalidad se han evaluado con las escalas PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) y GAF (Global Assessment of Functioning), respectivamente. El rendimiento cognitivo general se ha evaluado con el cuatro subtests de la escala WAIS (Wechsler Adult Intelligence Scale) y las dimensiones de memoria y función ejecutiva con las escalas WMS (Wechsler Memory Scale) y BADS (Behavioural Assessment of Dysexecutive Syndrome), respectivamente. Además, mediante un protocolo de resonancia magnética funcional, se ha estimado la actividad cerebral durante la realización de una tarea de memoria de trabajo como es el n-back. Mediante modelos de regresión lineal, hemos analizado el efecto principal del consumo de cannabis y de las variantes polimórficas de los genes *CNR1* y *CNR2*, y la interacción entre ellos, en los resultados clínicos y cognitivos, así como en la activación cerebral.

Resultados principales

En primer lugar, en lo que respecta a los efectos del cannabis, nuestros datos han mostrado una tendencia hacia una mayor severidad de síntomas positivos (PANSS) y un mejor rendimiento en habilidades manipulativas (test de matrices - WAIS) entre los

consumidores de cannabis en comparación con los no consumidores. En segundo lugar, con relación a los efectos genotípicos, hemos observado la asociación del polimorfismo rs1049353 del gen *CNR1* con la severidad de los síntomas desorganizados. Finalmente, los modelos de interacción han evidenciado que la asociación observada entre el cannabis y las habilidades manipulativas está modulada por el polimorfismo rs2501431 del gen *CNR2*. De manera similar, hemos encontrado también un efecto modulador de los genotipos *CNR1* y *CNR2* sobre el efecto del consumo de cannabis en la actividad cerebral en diferentes áreas cerebrales, como el núcleo caudado, la corteza cingulada y la corteza orbitofrontal.

Conclusiones

Los hallazgos de esta tesis indican que el cannabis influye de manera específica en ciertas dimensiones clínicas y cognitivas. En cambio, el gen *CNR1* impacta principalmente en las dimensiones clínicas. Asimismo, se identifica que el gen *CNR2* interacciona con el consumo de cannabis sobre algunas dimensiones cognitivas. Además, los resultados obtenidos destacan el papel modulador de la variabilidad genética de ambos receptores cannabinoides en la relación entre el consumo de cannabis y la función cerebral en los primeros episodios de psicosis. Este último efecto parece estar mediado por su influencia en áreas cerebrales clave del circuito de recompensa.

Estos datos, a pesar de requerir replicación en muestras más amplias, resaltan la necesidad de una mejor caracterización del papel combinado de la variabilidad genética del sistema endocannabinoide y el consumo de cannabis en la comprensión de la fisiopatología de la psicosis. El avance en este conocimiento podría tener aplicaciones clínicas significativas, tanto en la prevención como en tratamiento de los trastornos psicóticos, mediante el diseño de estrategias personalizadas que integren ambos factores.

RESUM DE LA TESI

Títol

Impacte del consum de cànnabis i la variabilitat genètica dels receptors cannabinoides en les característiques clíniques, cognitives i de neuroimatge funcional en els primers episodis psicòtics.

Paraules clau

Codis UNESCO

Descriptor 1: 320000 CIÈNCIES MÈDIQUES

Descriptor 2: 321100 PSIQUIATRIA

Descriptor 3: 240900 GENÈTICA

Descriptor 4: 221118 RESSONÀNCIA MAGNÈTICA

Introducció

Diversos estudis han demostrat la implicació del sistema endocannabinoide en l'etiologia dels trastorns psicòtics, a través de les seves funcions homeostàtiques en diferents sistemes de neurotransmissió. A més, s'ha descrit que el consum de cànnabis s'associa amb un increment del risc per a aquests trastorns i que aquest efecte estaria modulats per la variabilitat genètica. No obstant això, l'efecte d'aquesta modulació genètica ha estat molt menys explorat en relació a fenotips més específics. Per aquesta raó, aquesta tesi s'ha centrat a investigar l'efecte del cànnabis, la variabilitat polimòrfica en els gens dels receptors endocannabinoides i la seva interacció sobre la severitat dels símptomes psicòtics, la funció cognitiva i l'activitat cerebral en persones amb un primer episodi de psicosi (PEP).

Hipòtesi

La hipòtesi general d'aquesta tesi ha estat que el consum de cànnabis i la variabilitat genètica en el sistema endocannabinoide, específicament dels receptors cannabinoides

tipus 1 i 2 (CB1 i CB2), tindran un efecte sobre l'heterogeneïtat clínica i neurobiològica observada en les primeres fases dels trastorns psicòtics.

Objectius

Els objectius han estat investigar els efectes del consum de cànnabis, de la variabilitat polimòrfica dels gens dels receptors del sistema endocannabinoide i de la seva interacció sobre fenotips clínics, cognitius i d'activitat cerebral. Aquests objectius s'han desenvolupat en una mostra de pacients amb primer episodi psicòtic, amb la finalitat última de contribuir a la comprensió de les bases fisiopatològiques de la psicosi.

Mètodes

Els objectius s'han desenvolupat a través d'un disseny de casos, en una mostra de 50 persones amb un PEP (40 en el cas de l'estudi de neuroimatge funcional), dividits entre consumidors i no consumidors de cànnabis. S'han genotipat dos polimorfismes de nucleòtid únic ('Single Nucleotide Polymorphisms') en el gen del receptor cannabinoide tipus 1 (CNR1 rs1049353) i el gen del receptor cannabinoide tipus 2 (CNR2 rs2501431). La severitat dels símptomes i la funcionalitat s'han avaluat amb les escales PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) i GAF (Global Assessment of Functioning), respectivament. El rendiment cognitiu general s'ha avaluat amb quatre subtests de l'escala WAIS (Wechsler Adult Intelligence Scale) i les dimensions de memòria i funció executiva amb les escales WMS (Wechsler Memory Scale) i BADS (Behavioural Assessment of Dysexecutive Syndrome), respectivament. A més, mitjançant un protocol de ressonància magnètica funcional, s'ha estimat l'activitat cerebral durant la realització d'una tasca de memòria de treball com és el n-back. Mitjançant models de regressió lineal, hem analitzat l'efecte principal del consum de cànnabis i de les variants polimòrfiques dels gens CNR1 i CNR2, i la interacció entre aquests, en els resultats clínics i cognitius, així com en l'activació cerebral.

Resultats principals

En primer lloc, les nostres dades indiquen que els pacients consumidors de cànnabis mostren una tendència a presentar símptomes positius més severs (PANSS) i millors

puntuacions en el quocient d'intel·ligència de tipus manipulatiu (test de matrius - WAIS) en comparació amb els no consumidors. En segon lloc, hem observat l'associació del polimorfisme rs1049353 del gen CNR1 amb la severitat dels símptomes de tipus desorganitzat. Finalment, els models d'interacció han evidenciat que l'associació observada entre el cànnabis i les habilitats manipulatives està modulada pel polimorfisme rs2501431 del gen CNR2. De manera similar, també hem descrit un efecte modulador dels polimorfismes analitzats sobre l'efecte del consum de cànnabis en l'activitat cerebral en diferents àrees cerebrals clau del circuit de recompensa, com el nucli caudat, l'escorça cingulada i l'escorça orbitofrontal.

Conclusions

Les troballes d'aquesta tesi indiquen que el cànnabis influeix tant en la presentació clínica com cognitiva dels PEPs, mentre que la variabilitat genètica se s'associa a dimensions clíniques. A més, els resultats obtinguts destaquen el paper modulador de la variabilitat genètica dels receptors cannabinoides en la relació entre el consum de cànnabis i el rendiment cognitiu i la funció cerebral, assenyalant la importància de considerar ambdós factors en la comprensió de l'heterogeneïtat en la presentació dels PEPs. Aquestes dades, tot i que requereixen replicació en mostres més àmplies, ressalten la necessitat d'una millor caracterització del paper combinat de la variabilitat genètica del sistema endocannabinoide i el consum de cànnabis en la comprensió de la fisiopatologia de la psicosi. L'avenç en aquest coneixement podria tenir aplicacions clíniques significatives, tant en la prevenció com en el tractament dels trastorns psicòtics, mitjançant el disseny d'estratègies personalitzades que integrin tots dos factors.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Trastornos psicóticos: desde la etiología a la presentación clínica

Los trastornos psicóticos son un conjunto heterogéneo de enfermedades caracterizadas por disfunciones perceptivas y cognitivas, que provocan una pérdida de contacto con la realidad (1). Entre estos trastornos, la esquizofrenia, con un riesgo mórbido medio de por vida de 11,9 por 1000, y una mediana de 7,2 por 1000 (2), es el más destacado debido a su gravedad e impacto tanto en la persona como en su entorno familiar.

La evidencia científica señala dos principios clave complementarios sobre los que se centra la investigación biológica de la esquizofrenia: por un lado, el modelo que sostiene que la esquizofrenia es un trastorno del neurodesarrollo, y por otro, el modelo diátesis-estrés, que sugiere una interacción dinámica entre factores genéticos heredados (diátesis) y factores ambientales (estrés) (3).

En los años ochenta se desarrolló el modelo del neurodesarrollo (4,5) [Figura 1], basándose en la observación de alteraciones cerebrales estructurales y déficits motores y/o cognitivos en pacientes. De manera más concreta, este modelo sugiere que los trastornos psicóticos, surgen a partir de alteraciones en el desarrollo cerebral temprano (6) que afectan las trayectorias de desarrollo y maduración cerebral. Así, el neurodesarrollo juega un papel clave en la etiopatofisiología de estos trastornos, ya que durante la infancia y adolescencia se dan procesos clave altamente dinámicos, como la poda sináptica, la maduración de circuitos neuronales y la regulación de diferentes neurotransmisores, como la dopamina que, si se ven comprometidos, pueden dar lugar a los trastornos psicóticos más adelante. Este modelo ha sido respaldado por estudios de cohortes de nacimiento, además de estudios epidemiológicos (7), genéticos y de neuroimagen (8–13).

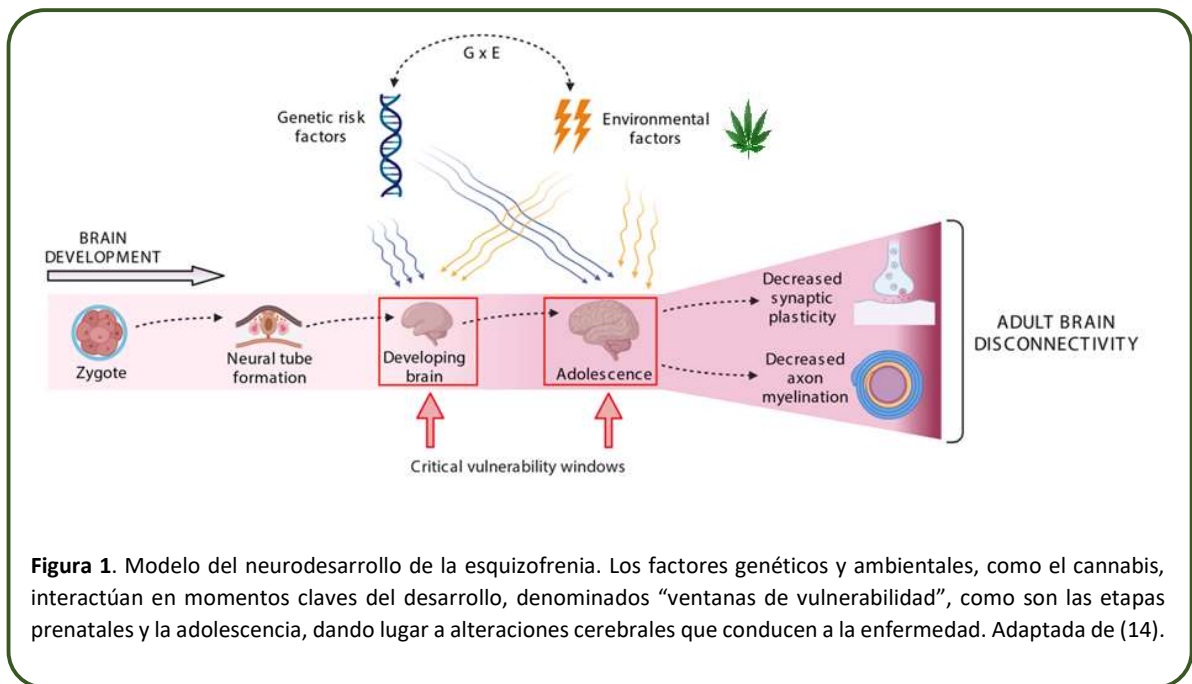
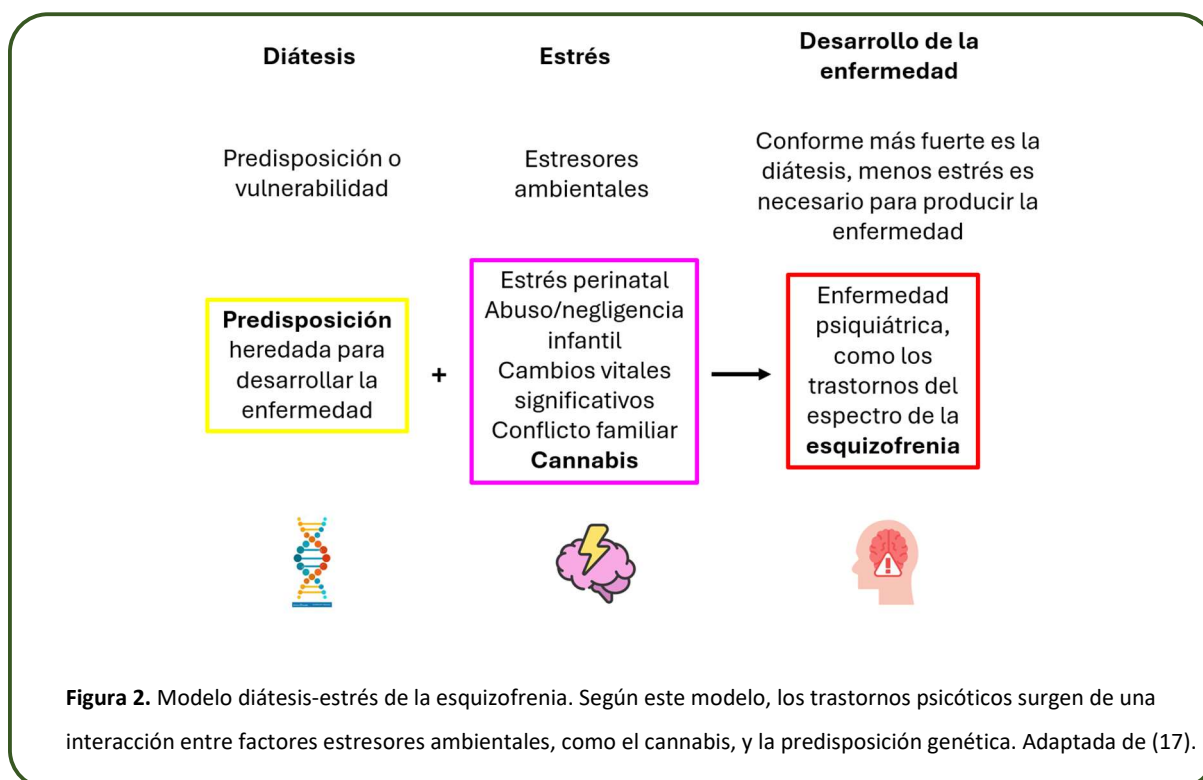


Figura 1. Modelo del neurodesarrollo de la esquizofrenia. Los factores genéticos y ambientales, como el cannabis, interactúan en momentos claves del desarrollo, denominados “ventanas de vulnerabilidad”, como son las etapas prenatales y la adolescencia, dando lugar a alteraciones cerebrales que conducen a la enfermedad. Adaptada de (14).

El modelo de diátesis-estrés [Figura 2] propone que la aparición de estos trastornos resulta de la interacción entre una vulnerabilidad biológica o predisposición genética (diátesis) y factores ambientales estresantes (15,16). Según este enfoque, una persona con una predisposición genética a la psicosis puede desarrollar síntomas si se enfrenta a niveles significativos de estrés, ya sea psicológico, tóxico u de otro tipo. Sin embargo, no todas las personas con esta predisposición desarrollan la enfermedad, lo que resalta la importancia de la interacción entre ambos factores. En este sentido, los factores ambientales actúan como un desencadenante en individuos predispuestos, en períodos de especial vulnerabilidad, donde la cantidad y la intensidad de estos puede determinar la gravedad o el inicio de los síntomas psicóticos. Este modelo, por tanto, aporta un enfoque integrador que combina factores genéticos y ambientales para explicar la etiología de la psicosis.



Los primeros síntomas de la esquizofrenia suelen manifestarse en la adolescencia tardía o la adultez temprana, generalmente entre los 16 y 30 años. La evolución suele ser hacia la cronicidad, presentando con frecuencia recaídas a lo largo de la vida. En este sentido, los estadios tempranos del trastorno o primeros episodios psicóticos (PEPs) son fundamentales en el estudio de la etiología de la esquizofrenia, ya que representan la fase inicial de la enfermedad, donde los síntomas comienzan a manifestarse de manera clara y pueden proporcionar una valiosa ventana de oportunidad para la intervención precoz.

Las manifestaciones de la esquizofrenia incluyen síntomas positivos y negativos [Tabla 1] (18,19). Los síntomas positivos se refieren a la aparición de comportamientos o experiencias que normalmente no están presentes en personas sanas; son más evidentes, impactantes y alarmantes en situaciones sociales. Estos síntomas positivos suelen responder mejor a los tratamientos farmacológicos en comparación con los negativos. En cambio, los síntomas negativos implican la disminución o ausencia de funciones normales, lo que afecta considerablemente el funcionamiento diario del paciente, responden de manera poco efectiva a los tratamientos y su mayor intensidad

se asocia a un peor pronóstico. Además, son más característicos, o al menos más específicos de la esquizofrenia que los síntomas positivos (20,21).

Tabla 1. Síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia según F. Ortuño (18).

Síntomas Positivos	Síntomas Negativos
Alucinaciones: percepciones sin estímulos reales, como oír voces o ver cosas que no existen.	Aplanamiento afectivo: falta o disminución de la expresión emocional, dificultad para mostrar emociones.
Delirios: creencias falsas o irracionales, firmemente mantenidas, como la sensación de ser perseguido o poseer habilidades especiales.	Anhedonia: incapacidad para experimentar placer en actividades que normalmente lo generan.
Pensamiento desorganizado: discurso incoherente, dificultad para seguir un hilo de pensamiento lógico.	Alogia: pobreza del habla o disminución de la fluidez y productividad del lenguaje.
Comportamiento motor alterado: movimientos anormales o agitación psicomotora, como movimientos repetitivos.	Abulia: falta de motivación o interés por iniciar y mantener actividades cotidianas.
	Aislamiento social: tendencia a evitar la interacción social o a sentirse incapaz de mantener relaciones.

Los déficits cognitivos son también una característica central de la esquizofrenia, entre los que destacan alteraciones atencionales, en memoria de trabajo, en aprendizaje verbal, en funciones ejecutivas y en velocidad de procesamiento (22–24). Estos déficits estables y persistentes predicen resultados funcionales desfavorables (25,26). Son altamente hereditarios (27,28) y entre los dominios más heredables se encuentran la memoria de trabajo ($h^2=0.65$) (29) y la fluidez verbal ($h^2=0.55$) (30); pueden encontrarse en formas atenuadas en familiares sanos de primer grado.

La enfermedad suele manifestarse a lo largo del tiempo con sucesivos episodios, que son períodos en los que algunos síntomas de la enfermedad se presentan de manera evidente durante un tiempo determinado. Lo más común es que el paciente experimente múltiples episodios a lo largo de su vida (31). Aproximadamente un tercio

de los casos no sigue un patrón de episodios, sino que se trata de un proceso continuo (32), donde los síntomas iniciales, o nuevos, permanecen sin interrupción clara; esta evolución suele conducir a la cronicidad y resulta más debilitante. Además, el debut de este trastorno, en edades tempranas, como la adolescencia o la juventud, particularmente críticas en los procesos de maduración, suele afectar negativamente el desarrollo normal de las capacidades intelectuales, emocionales, sociales y laborales (33).

En la versión más reciente del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5) de la Asociación Americana de Psiquiatría (34), todos los trastornos psicóticos se agrupan en el mismo capítulo. Entre los principales trastornos psicóticos se encuentran la esquizofrenia, el trastorno esquizofreniforme, el trastorno esquizoafectivo, el trastorno delirante y el trastorno psicótico breve. Estos trastornos se diferencian según la duración, la gravedad de los síntomas y la presencia de episodios afectivos concurrentes.

El PEP se refiere al momento en que una persona experimenta por primera vez síntomas psicóticos, que suele marcar el inicio de la enfermedad o la expresión clara de sus síntomas. Sin embargo, episodio psicótico se trata de un término genérico que puede ser la presentación de distintos trastornos mentales graves o de ninguno. El diagnóstico de un trastorno específico resulta complicado, dado que las manifestaciones clínicas del PEP no son exclusivas de ninguna enfermedad; sólo en algunos casos los síntomas serán tan claros de entrada que tendremos un diagnóstico más concreto. La evolución (naturaleza de los síntomas, duración y otros factores asociados) después de varios meses o a veces años después del PEP es la que va a determinar el diagnóstico psiquiátrico definitivo. No obstante, una adecuada caracterización del PEP puede contribuir a establecer un pronóstico más certero a largo plazo y a seleccionar un tratamiento apropiado, especialmente si se trata de una psicosis afectiva o no (35). Algunos estudios longitudinales han observado que la estabilidad diagnóstica es alta incluso después de 10 años en pacientes con trastornos del espectro esquizofrénico o afectivos (36,37), mientras que el trastorno psicótico breve presenta una considerable inestabilidad diagnóstica a lo largo de los años siguientes (38). En cuanto al trastorno psicótico inducido por sustancias, como el consumo de cannabis, la mayoría de los

pacientes experimentan recaídas en los años posteriores (39,40). Aproximadamente la mitad de ellos reciben un diagnóstico posterior de trastornos psicóticos del espectro esquizofrénico (39,41).

La importancia del estudio del PEP radica en que esta etapa temprana ofrece una ventana única para la intervención precoz, que puede influir significativamente en el curso de la enfermedad y mejorar el pronóstico a largo plazo (42,43), pudiendo minimizarse el impacto social y funcional de la enfermedad. En definitiva, estudiar los PEP ayuda a comprender mejor los procesos neurobiológicos de la psicosis y a desarrollar estrategias de tratamiento más eficaces.

1.2. Cannabis como factor de riesgo para el desarrollo de trastornos psicóticos

1.2.1. Consumo de cannabis: prevalencia y tendencias de consumo en un contexto legislativo cambiante

Cannabis es el término generalmente utilizado para referirse a los diversos preparados psicoactivos derivados de la planta Cannabis sativa. Se ha reportado que el extracto de Cannabis sativa contiene más de 100 fitocannabinoides distintos, siendo el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD) los más abundantes (44). THC es el principal componente psicoactivo, altamente liposoluble, y su consumo suele ser principalmente por inhalación, aunque también puede ingerirse por vía oral a través de alimentos grasos o disuelto en aceites (45).

El cannabis es la droga ilícita más consumida en el mundo: alrededor de 147 millones de personas consumen cannabis, con una prevalencia anual del 2,5% de la población mundial (46). El estatus legal del cannabis medicinal y recreativo ha cambiado sustancialmente en las últimas décadas a nivel mundial y es objeto de debate en la actualidad. Las posibles desventajas de una legislación más permisiva en este sentido incluyen un mayor uso no médico debido a la menor percepción de nocividad y una mayor disponibilidad (47,48), con el subsiguiente aumento del riesgo de consecuencias adversas para la salud (49,50). Además, el uso regular e intenso puede conducir a un trastorno por consumo de cannabis (34), un funcionamiento social deteriorado (51,52)

y comorbilidad psiquiátrica (53,54). Una revisión sistemática reciente que analizó 32 estudios concluyó que la legalización del cannabis se asoció con un aumento en el consumo de esta sustancia en el último mes entre los adultos jóvenes (55).

Por otro lado, las variedades de cannabis más comúnmente utilizadas con fines recreativos en los últimos tiempos se han caracterizado por un alto contenido de THC y una baja potencia de CBD (56), lo que puede implicar riesgos mayores a nivel de salud. En los últimos años, la potencia del cannabis disponible en las calles de muchos países occidentales ha aumentado considerablemente. En la década de 1960, tanto la marihuana como el hachís solían contener un 3% o menos de THC. Sin embargo, a principios del siglo XXI, los niveles de THC se incrementaron, alcanzando un promedio del 12% en Estados Unidos (57), 15% en Australia (58), incluso 20% en Países Bajos (59).

Este panorama subraya la importancia de una regulación adecuada que considere los riesgos del uso recreativo de cannabis en la población, especialmente en grupos vulnerables, para mitigar el impacto negativo sobre la salud mental.

1.2.2. Evidencias de asociación entre el consumo de cannabis y los trastornos psicóticos

La primera evidencia formal en estudios de cohortes que relaciona el consumo de cannabis con la esquizofrenia provino de un estudio de reclutas del servicio militar de Suecia en 1987 (60). Desde entonces, la asociación entre el consumo de cannabis y la psicosis se ha investigado ampliamente a través de estudios longitudinales de consumidores de cannabis de la población general. Así, diversos estudios realizados en este contexto han informado de una asociación entre el consumo de cannabis y un riesgo significativamente mayor de desarrollar síntomas psicóticos o trastornos psicóticos, con *odds ratio* (OR) de entre 1.2 y hasta 6.7 (60–69); mientras que otros mostraron una tendencia en la misma dirección, pero no alcanzaron significación estadística (70,71). Esta asociación también se ha replicado en estudios de metaanálisis y revisiones sistemáticas (72–75), con OR para la misma de entre 1.41-3.90.

En cuanto a la magnitud de la asociación entre el consumo de cannabis y los efectos psicóticos, la evidencia científica actual apunta hacia una relación dosis-

respuesta entre la exposición al consumo de cannabis y el riesgo de desarrollar psicosis, es decir, se trata de una relación dosis dependiente (64,76,77), tal y como se ha confirmado en metaanálisis y revisiones sistemáticas (74,78,79). Otro metaanálisis de datos agrupados de 10 estudios, tanto de cohortes como transversales, sobre 66.816 participantes (72) informó que, en comparación con los no consumidores, los consumidores de cannabis (con antecedentes de cualquier consumo de cannabis, es decir, sin tener en cuenta dosis y/o frecuencia) tenían casi el doble de probabilidades de desarrollar síntomas psicóticos o un trastorno psicótico, y el riesgo aumentaba a casi cuatro veces en los consumidores más habituales.

Los estudios experimentales han permitido profundizar en la relación de causalidad entre el consumo de cannabis y la psicosis. En estudios con modelos animales se observó que en ratas adolescentes el consumo de cannabis producía alteraciones similares a las presentes en sujetos con esquizofrenia (deterioro en la memoria de trabajo, aumento de la expresión del receptor CB1 en el hipocampo, disminución significativa de la proteína sinaptofisina y PSD95,...) como se revisa en Renard et al. (80). Igualmente, estudios de este tipo en humanos han demostrado de manera concluyente que el THC puede inducir síntomas psicóticos transitorios, así como algunas de las anomalías cognitivas y neurofisiológicas que se encuentran en la esquizofrenia (81).

En relación a otros factores relevantes en la asociación cannabis-psicosis, diversos estudios sugieren que el inicio temprano del consumo de cannabis, especialmente durante la adolescencia, puede interferir en estos procesos neurobiológicos claves, incrementando el riesgo de trastornos psicóticos en individuos susceptibles (76,77,82–85). Como se mencionaba anteriormente, el impacto de la edad de inicio de consumo se relaciona con la existencia de ventanas críticas durante el neurodesarrollo, que representan periodos de mayor vulnerabilidad a agentes externos. Así, por ejemplo, Arseneault et al. (65) encontraron que las personas que comenzaron temprano en el consumo de cannabis (a la edad de 15 años) tenían 4 veces más probabilidades de sufrir una psicosis esquizofreniforme a la edad de 26 años que los no consumidores. Por lo tanto, comprender las interacciones entre el consumo de cannabis y el momento neurobiológico en el que se inicia dicho consumo es crucial

para explicar la vulnerabilidad diferencial observada en adolescentes y adultos jóvenes respecto a trastornos psicóticos.

Finalmente, se ha encontrado que el consumo de cannabis en pacientes con psicosis se asocia con un peor pronóstico: edad de inicio más temprana de la enfermedad (83,86,87), mayor gravedad de los síntomas psicóticos (ver apartado 1.5.1.) (88), peor adherencia al tratamiento (89–92), más riesgo de recaída o no remisión (90–93), así como hospitalizaciones más prolongadas (93). Sin embargo, la interrupción temprana del consumo podría revertir estos efectos negativos, destacando la importancia de intervenciones dirigidas a reducir el consumo de esta sustancia (94).

1.3. Sistema endocannabinoide: mediador de los efectos del cannabis en nuestro organismo

1.3.1. Estructura del sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide (SEC), a través de su interacción con otros sistemas de neurotransmisión (95), regula muchas respuestas cognitivas, comportamentales y emocionales en el sistema nervioso central, así como funciones inmunológicas y metabólicas. En consecuencia, el SEC desempeña un papel fundamental en la regulación y el mantenimiento de la homeostasis funcional y del desarrollo del cerebro (96,97). Este sistema consta de receptores cannabinoides, sus ligandos naturales, y las enzimas que los transportan, sintetizan y catabolizan (95).

Los ligandos endógenos del SEC o endocannabinoides son lípidos que se unen a los receptores cannabinoides y se sintetizan y liberan a demanda (98), de manera localizada (99). Entre los endocannabinoides mejor caracterizados se encuentran el 2-araquidonoilglicerol (2-AG) y la anandamida o araquidonoiletanolamida (AEA), siendo el 2-AG el más abundante en el sistema nervioso central (100). Estos compuestos actúan como moléculas de señalización retrógrada y modulan la liberación de neurotransmisores (98,101–104).

Las dos principales enzimas de síntesis de AEA y 2-AG son N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipasa (NAPE) y diacilglicerol lipasa (DAGL), respectivamente, y las enzimas amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y monoacilglicerol lipasa (MAGL) son responsables de su degradación o recaptación (105) **[Figura 3]**. A pesar de su similitud estructural, 2-AG y AEA se sintetizan y degradan a partir de células postsinápticas por vías diferentes, por lo que tienen funciones fisiológicas distintas.

Los receptores mejor caracterizados del SEC son los receptores de cannabinoides tipo 1 y 2 (CB1R y CB2R), ambos acoplados a proteína G. 2-AG y AEA muestran una mayor eficacia agonista en CB1R que en CB2R; la primera es agonista total de ambos receptores, y AEA es agonista total en CB1R y parcial en CB2R. CB1R es el receptor acoplado a proteína G más abundante en el cerebro de los mamíferos y se expresa principalmente en las terminales presinápticas de células gliales y neuronas, particularmente en regiones clave para el funcionamiento de la cognición y las emociones, como los ganglios basales, el hipocampo, el cerebelo y la corteza prefrontal, cíngula anterior y cíngula posterior (106). Se localiza fundamentalmente en las interneuronas GABAérgicas y glutamatérgicas (107), y su activación suprime la liberación de estos neurotransmisores **[Figura 3]**.

CB2R se detectó primero en células del sistema inmune periférico y de neuroglia (108–110), y más tarde en neuronas también (111). Liu et al. (112) identificaron el CB2R en la amígdala, hipocampo, cerebelo, núcleo accumbens, caudado/putamen y corteza. Dado que el CB2R parece ser principalmente postsináptico, se cree que la activación del CB2R puede tener efectos opuestos a los del CB1R (113) **[Figura 3]**.

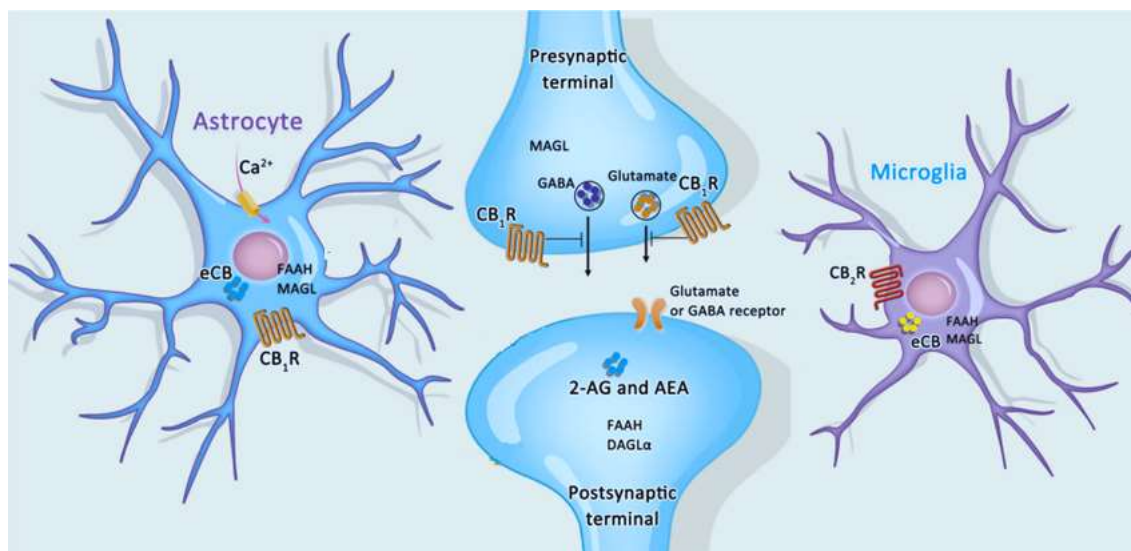


Figura 3. Señalización del sistema endocannabinoide (SEC) en neuronas y astrocitos. En la despolarización de la terminal postsináptica, el 2-araquidonoilglicerol (2-AG) está presente en la terminal postsináptica y se sintetiza "a demanda" por la diacilglicerol lipasa- α (DAGL α). El 2-AG viaja al CB₁R presináptico para inhibir la liberación de neurotransmisores, especialmente cuando la terminal postsináptica está activada. La enzima degradante de 2-AG, la monoacilglicerol lipasa (MAGL), se encuentra en la terminal presináptica o en los astrocitos. La enzima degradante de N-araquidonoiletanolamina (AEA), la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), está presente en la terminal postsináptica. El receptor cannabinoide tipo 1 (CB₁R) suele estar presente en la terminal presináptica. Su estimulación por 2-AG o AEA conduce a la inhibición de la liberación de neurotransmisores desde la terminal presináptica. Imagen adaptada de (114).

1.3.2. Relación del sistema endocannabinoide con los trastornos psicóticos

La asociación observada entre el consumo de cannabis y el desarrollo de psicosis vendría principalmente mediada por el efecto de su componente psicoactivo, el THC, sobre el SEC (107,115–117). Su consumo puede alterar el funcionamiento de sustratos neuronales clave, al afectar la función homeostática del SEC, particularmente cuando la exposición ocurre durante períodos sensibles del neurodesarrollo (118).

Dado que se ha formulado la hipótesis de que la dopamina representa una vía final común decisiva entre la biología del cerebro y la psicosis (119–121), es clave comprender la interacción entre los sistemas de transmisión dopaminérgicos y endocannabinoide. La investigación en estudios efectuados en animales sugiere que el THC aumenta los niveles de dopamina en diversas regiones del cerebro. Esto se produciría a través de la unión de THC a los CB₁R de las terminales GABA y

glutamatérgicas, de los que es agonista parcial y a los que se une con fuerte afinidad [Figura 4]. Se trataría por tanto de una afectación indirecta de la transmisión dopaminérgica, a través de la modulación de las entradas de GABA y glutamato recibidas por las neuronas dopaminérgicas (102,104,122). De esta manera se contribuiría al desarrollo de síntomas psicóticos en individuos vulnerables, así como también se verían afectados los procesos de recompensa y motivación.

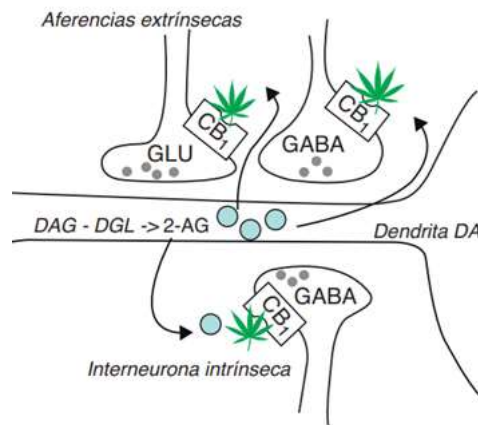


Figura 4. Convergencia de la dopamina y los endocannabinoides en el área tegmental ventral. La descarga de las neuronas dopaminérgicas (DA) del mesencéfalo está influida por aferencias excitadoras (glutamatérgicas [GLU]) e inhibitorias (GABAérgicas [GABA]). Las neuronas DA regulan las terminales presinápticas mediante la señalización endocannabinoide retrógrada (2-AG). Cuando el THC, indicado por las hojas de cannabis, se une a los receptores CB1, localizados en las terminales GLU y GABA, la señalización endocannabinoide retrógrada (2-AG) se altera y la estimulación de los receptores CB1 por THC inhibe la liberación de glutamato y GABA. Adaptado de (123).

1.3.3. Cambios del sistema endocannabinoide en trastornos psicóticos

Varios estudios han reportado alteraciones del SEC en pacientes con esquizofrenia (para una revisión, ver (124)), independientemente del consumo de esta sustancia. Estos cambios observados en los endocannabinoides, las enzimas y los receptores, parecen variar según la región del cerebro, el estado del tratamiento y la etapa de la enfermedad.

En cuanto a los niveles de endocannabinoides, estudios en pacientes con esquizofrenia han mostrado un aumento de los niveles de AEA tanto en el líquido cefalorraquídeo como en la sangre periférica, en comparación con sujetos sanos (125–128).

También se han descrito cambios en las enzimas que sintetizan y degradan los endocannabinoides en pacientes con esquizofrenia, en comparación con sujetos sin la enfermedad (117). En general, se ha reportado el aumento de la expresión de aquellas enzimas que catabolizan los endocannabinoides, como FAAH y MAGL, y el descenso de las que los sintetizan, como DAGL y NAPE (129).

En cuanto a los receptores, los estudios periféricos proporcionan evidencia de una expresión elevada de CB1R y CB2R en esquizofrenia (130–132). Sin embargo, los resultados en estudios post-mortem revelan contradicciones. Por un lado, algunos estudios validan los resultados a nivel periférico ya que identifican una unión elevada del ligando del CB1R en el cerebro (133,134). En cambio, a diferencia de algunos estudios anteriores basados en tomografía por emisión de positrones (PET) (135,136), los estudios más recientes informan de reducciones generalizadas de la disponibilidad del CB1R (137,138). Este resultado está en línea con la reducción del ARNm del CB1R y de la inmunorreactividad observado en otros estudios (133,139,140).

En conjunto, los estudios realizados en sangre periférica, líquido cefalorraquídeo, tejido post-mortem e imágenes PET in vivo parecen indicar alteraciones del SEC en los trastornos psicóticos [Tabla 2]. Sin embargo, en la interpretación de estos resultados es necesario tener en cuenta que los niveles periféricos de los diversos componentes del SEC no necesariamente son informativos de lo que sucede a nivel cerebral.

Tabla 2. Estudios sobre las alteraciones de los diferentes componentes del SEC en el cerebro en pacientes con esquizofrenia. Adaptado de (141).

Elemento SEC	Hallazgo en Sch (% cambio)	Región cerebral	Cohorte (n: Sch-Ct)	Método/muestra	Referencia
CB1 (disponibilidad)	↓ (12%)	AM, CD, Insula, CCP, HC, HT	25–18	<i>In vivo</i> PET cerebral [¹¹ C]OMAR	(141)
	↑ (10%-5%)	NACC, Insula, CC, CFI	67–12	<i>In vivo</i> PET cerebral [¹⁸ F]MK-9470	(134)
	↑ (23%)	TE	9–10	<i>In vivo</i> PET cerebral [¹¹ C]OMAR	(135)
CB1 (densidad)	↑ (8%)	CPDL	21–21	[³ H]-OMAR /TCPM	(142)
	↑ (20%)	CPDL	47–43	[³ H]MePPEP /TCPM	(143)
	↑ (22%)	CPDL	37–37	[³ H]CP-55940 /TCPM	(144)
	≈	GTS	8–8	[³ H]SR141716A y [³ H]CP-55940/TCPM	(145)
	↑ (25%)	CCP	8–8	[³ H]CP-55940/TCPM	(146)
	↑ (64%)	CCA	10–9	[³ H]SR141716A /TCPM	(147)
	↑ (23%)	CPDL	14–14	[³ H]CP-55940/TCPM	(133)
CB1 (proteína)	↓ (19–20%)	CPDL	26–26	Inmunohistoquímica /TCPM	(132)
	≈ (AP-L/↓ (29%)(AP-T)	CPDL	25–25	Immunoblot /TCPM	(139)
	↓ (12–14%)	CPDL	23–23	Inmunohistoquímica /TCPM	(138)
	≈	CCA	15–15	Inmunohistoquímica /TCPM	(148)
	≈	CPDL	37–37	RT-qPCR/TCPM	(144)
CB1 (mRNA)	≈	CPDL	20–20	RT-qPCR/TCPM	(139)
CB2 (mRNA)	↓ (15%)	CPDL	23–23	Hibridación in-situ /TCPM	(138)
EC enzimas-(mRNA)	≈	CPDL	23–24	RT-qPCR/TCPM	(149)
	↑ (18%) ABHD6 in < 40 años (n = 13–13)	CPDL	42–42	RT-qPCR/TCPM	(150)
	≈ FAAH, MAGL, DAGLα, DAGLβ	CPDL	42–42	RT-qPCR/TCPM	(151)

↑Aumento; ↓descenso; ≈ sin cambio significativo. ABHD6: dominio 6 de la α - β -hidrolasa; AP-L: libre de antipsicótico; AP-T: tratado con antipsicótico; Ct: controles; DAGL: diacilglicerol lipasa; FAAH: amida hidrolasa de ácidos grasos; MAGL: monoacilglicerol lipasa; PET: tomografía por emisión de positrones; RT-qPCR: reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real; Sch: pacientes con esquizofrenia; SEC: sistema endocannabinoide; TPCM: tejido cerebral post-mortem. Regiones cerebrales: AM: amígdala; CC: corteza cingulada; CCA: corteza cingulada anterior; CCP: corteza cingulada posterior; CD: caudado; CFI: corteza frontal inferior; CP: corteza parietal; CPDL: corteza prefrontal dorsolateral; GTS: giro temporal superior; HC: hipocampo; HT: hipotálamo; NACC: núcleo accumbens; TE tronco encefálico.

1.4. Bases genéticas de los trastornos psicóticos

1.4.1. Componente genético de los trastornos psicóticos

La investigación genética en el campo de la psicosis ha demostrado que los factores hereditarios desempeñan un papel crucial en la etiología de los trastornos psicóticos. Teniendo en cuenta las evidencias de estudios de genética cuantitativa, basados en familias y gemelos, y otros más recientes de tipo molecular, la contribución relativa de los factores genéticos en el riesgo para desarrollar esquizofrenia se sitúa en torno al 80% (8,153,154).

En relación a los estudios de agregación familiar (155–159), el riesgo de sufrir esquizofrenia se incrementa de forma no lineal según el grado de parentesco con otra persona afectada, de manera que tener un familiar de 3er grado afectado aumenta la probabilidad a un 2% y a un 9% si es de primer grado. La concordancia para gemelos monocigóticos se sitúa en torno a un 30-50% (153,160–162), frente a un 10-15% en

dicigóticos, de lo que se desprende la importancia de los factores genéticos en la etiología de estos trastornos al mismo tiempo que refleja la implicación de factores ambientales y, por tanto, señala su arquitectura compleja y multifactorial.

En las últimas dos décadas los avances tecnológicos y la formación de consorcios para estudios multicéntricos han permitido análisis genómicos a gran escala y tamaños muestrales suficientes para alcanzar la potencia estadística necesaria para estudiar el genoma completo. Estas aproximaciones han permitido confirmar la arquitectura poligénica de la esquizofrenia, en la que estarían implicadas múltiples variantes genéticas (163–165). Un ejemplo muy ilustrativo es el resultado del estudio de Loh et al. (166) en el que se determinó que más del 71% de las regiones genómicas de 1 megabase en el genoma contienen al menos un alelo (o variante genética) de riesgo de esquizofrenia. Por otro lado, el estudio más reciente de asociación genética de genoma completo en casos y controles (GWAS), ha permitido identificar 287 loci independientes asociados con la esquizofrenia, definidos por variaciones comunes (frecuencia alelo menor [MAF] > 1%) de un solo nucleótido Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) (167). La complejidad organizativa derivada de esta poligenicidad se intensifica aún más debido a que los genes no actúan de manera aislada, sino que interactúan entre sí formando redes biológicas (168–171). Por tanto, los resultados de los estudios GWAS permiten señalar genes específicos asociados con el trastorno, pero, al mismo tiempo, el análisis conjunto de dichos genes permite establecer vías biológicas en las que están implicados, contribuyendo a la identificación de mecanismos fisiopatológicos del trastorno. En el caso de la esquizofrenia, los datos genómicos convergen en vías biológicas identificables relacionadas con el neurodesarrollo, destacando especialmente el mecanismo de la plasticidad sináptica (172,173).

El análisis conjunto de las variantes genéticas identificadas en estudios de GWAS, ha permitido desarrollar la estimación de un puntaje de riesgo poligénico para la esquizofrenia (PRS-SCZ), que refleja parte de la predisposición genética a la enfermedad a través de la suma del riesgo de los alelos asociados a dicha enfermedad en muchos loci genéticos, ponderados por el tamaño del efecto de cada uno (174–176). También en muestras de pacientes con PEP se ha encontrado una asociación

significativa del PRS-SZ con la psicosis (177). Así, se ha demostrado que el PRS para los trastornos psicóticos está asociado con el riesgo a nivel de población (8), familiar (178) y la segregación de dichos trastornos dentro de una familia (179). Se trata, por tanto, de un marcador de riesgo, pero sin utilidad diagnóstica, es decir, predice un aumento de la probabilidad de sufrir la enfermedad, pero no es suficiente para establecer el diagnóstico, que se sigue realizando hoy en día a través de la entrevista y evaluación clínica por parte de un facultativo especialista en salud mental.

Además de las variantes comunes, en la esquizofrenia se han identificado variantes genéticas raras (de baja frecuencia) asociadas a tamaños de efecto que van desde moderados hasta grandes (180,181). Debido a su baja frecuencia y a menudo ocurrencia *de novo*, estas variantes no explican gran parte de la heredabilidad genética de la esquizofrenia, aunque a nivel individual se asocian a un incremento del riesgo importante.

Los análisis poligénicos de múltiples trastornos sugieren que los loci genéticos que contribuyen al riesgo de esquizofrenia también están implicados en otras enfermedades mentales. Existe un solapamiento sustancial entre la carga genética de la esquizofrenia y el trastorno bipolar, el trastorno depresivo mayor y el autismo (182). Como en el caso de otros trastornos mentales de etiología multifactorial, ningún gen o variante genética ha sido implicado como factor causal necesario y suficiente.

1.4.2. Interacción gen-ambiente en la comprensión de la relación entre el uso de cannabis y los trastornos psicóticos

El hecho de que sólo una pequeña proporción de consumidores desarrolle psicosis y que no todas las personas con un trastorno psicótico hayan estado expuestas al cannabis sugiere que ciertos individuos pueden ser especialmente vulnerables a los efectos del cannabis y que parte de dicha vulnerabilidad puede estar modulada por factores genéticos (183). O, lo que es lo mismo, el efecto diferencial del cannabis podría estar mediada por factores genéticos (153). Basándonos en lo anterior, hablamos de una interacción gen-ambiente (en este caso, consumo de cannabis), mecanismo por el cual la variabilidad genética presente en las poblaciones humanas

puede influir en la sensibilidad a los efectos del cannabis y aumentar el riesgo de desarrollar psicosis. Esta vulnerabilidad genética puede amplificar los efectos adversos del ambiente en algunos casos, mientras que, en otros, puede proteger a ciertos individuos, según la combinación genética que posean (184). Por esta razón, la interacción gen-ambiente se define también como la modulación genética de la sensibilidad individual a determinados factores ambientales. A modo de ejemplo, en un reciente estudio de casos y controles (185), el consumo de cannabis se asoció con el desarrollo de psicosis y se encontró además que dos SNPs del gen *CNR1* (rs12720071 y rs7766029) modulaban el efecto del consumo de cannabis sobre el riesgo de desarrollar psicosis. Al contrario, Zammit et al. (186) no encontraron efecto interacción entre variables genéticas de *CNR1* y el consumo de cannabis sobre el desarrollo de esquizofrenia.

Diversos estudios han identificado que variantes genéticas de genes relacionados con el metabolismo de los neurotransmisores modulan la respuesta individual al consumo de cannabis, aumentando la susceptibilidad a desarrollar psicosis en ciertos individuos. Por ejemplo, la variante Val158Met en el gen *COMT* (codifica para la enzima Catecol-O-Metiltransferasa) se ha asociado con un mayor riesgo de psicosis en consumidores de cannabis, dado su impacto en la regulación de la dopamina en la corteza prefrontal (184). Asimismo, se ha reportado que individuos portadores de variantes en genes como *AKT1* (codificante de AKT serina/treonina quinasa 1), que influye en la señalización dopaminérgica, presentan un riesgo elevado de desarrollar psicosis tras el consumo regular de cannabis (187). De igual manera, además de los cambios en el SEC provocados por cannabinoides externos, la variabilidad genética de los genes relacionados con el SEC también podría estar implicada en la fisiopatología de los trastornos psicóticos, influyendo en los efectos del cannabis y modulando el riesgo de desarrollar psicosis (ver apartado 1.4.3.). Este enfoque integrador sugiere la necesidad de desarrollar nuevos estudios que combinen el análisis de la exposición al cannabis con la variabilidad genética individual.

Por otra parte, se ha propuesto también la presencia de una vulnerabilidad genética compartida (188–190) como posible explicación de la asociación entre el consumo de cannabis y la psicosis. Estamos hablando de la correlación gen-ambiente,

que implica que los genes no solo determinan cómo respondemos a un entorno, sino que también influyen en la probabilidad de que busquemos o nos exponamos a ciertos ambientes. Los estudios en gemelos y familias muestran que aquellos que tienen familiares con esquizofrenia no solo tienen un mayor riesgo genético de desarrollar el trastorno, sino que también tienen mayor probabilidad de consumir cannabis (191,192). Estos hallazgos respaldan la idea de que el consumo de cannabis podría estar mediado, en parte, por una predisposición genética compartida con la esquizofrenia (190). Este mecanismo no es excluyente de la interacción gen-ambiente, sino que pueden y suelen ser concurrentes.

1.4.3. Variabilidad genética de los receptores cannabinoides y riesgo de trastornos psicóticos asociado

En relación con las evidencias genéticas que respaldan la participación del SEC en la etiología de la esquizofrenia, la mayoría provienen de estudios que investigan el papel de los genes de los receptores de cannabinoides.

Los CB1Rs están codificados por el gen *CNR1*, que está ubicado en un locus de susceptibilidad a la esquizofrenia designado por Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 5 (SCZ5, OMIM 603175) (193). Es reseñable comentar que los genes codificantes para los receptores cannabinoides, especialmente *CNR1*, se han estudiado principalmente en relación al riesgo de psicosis o la severidad clínica (ver apartado 4.5.2.), con resultados heterogéneos en función de las variantes genéticas y los fenotipos estudiados (194). En este apartado nos centraremos en la relación de las variantes genéticas de los receptores del SEC con el riesgo de psicosis.

El primer estudio de asociación de este gen con la esquizofrenia se basó en la variación de la repetición de un triplete (AAT)_n (195). Aunque los resultados iniciales fueron negativos, la mayoría de los estudios se han centrado en investigar la asociación de este polimorfismo, con resultados de asociación significativa con la esquizofrenia en poblaciones japonesas, españolas y afrocaribeñas (193,196–198), pero negativa en poblaciones alemanas y chinas (199,200). Si bien probablemente sea éste el polimorfismo más estudiado del gen *CNR1*, algún otro estudio ha puesto el foco en

otros polimorfismos, la mayoría con resultados negativos (186,193,196,199,201). Asimismo, el análisis de diferentes SNPs en los estudios GWAS desarrollados hasta la fecha no ha asociado directamente el gen *CNR1* con el riesgo para psicosis (167).

A pesar de estos resultados mayoritariamente negativos, cabe destacar que este gen sí que se ha asociado con el abuso de sustancias (197,202) e incluso con la respuesta a tratamientos antipsicóticos (201,203,204). En concreto, varios estudios relacionan variantes de *CNR1* con el consumo de cannabis (163,205,206), aunque existen también estudios negativos en este sentido (207–209).

El gen *CNR2*, que codifica para el CB2R, también se han relacionado con el riesgo de esquizofrenia. En un estudio se describió la asociación de dos SNPs de *CNR2* (rs2501432 y rs12744386) con la esquizofrenia en población japonesa (210) y, además, este estudio aportaron datos sobre la relación entre una funcionalidad disminuida del alelo R63 del rs2501432 de *CNR2* (R63Q) (en relación con la alteración de la estructura hidrofílica/hidrofóbica del receptor que puede alterar la transducción de la señal tras la estimulación con el ligando) y una mayor susceptibilidad a la esquizofrenia. Otra investigación descubrió que rs2501432 y rs2229579 en *CNR2* tenían asociaciones significativas con la esquizofrenia en población china (211). Por contra, el estudio de Bae et al. 2014 (196) en una población de origen coreano no replicó dichos resultados.

El papel de las vías de señalización de CBR2 en la modulación de diversos comportamientos asociados a la dopamina (212) sugiere un papel crítico de este receptor también en el abuso de drogas (113,213). En este sentido, en la revisión de Onaivi et al. (214) se informa de la implicación del gen *CNR2* no solo en el riesgo para trastornos neuropsiquiátricos como la esquizofrenia, sino también con el abuso de sustancias. Por ejemplo, Kurnaz et al. (215) informaron que la variante rs2229579 del *CNR2* afecta la susceptibilidad al trastorno por uso de sustancias mientras que Ishiguro et al. (216) mostraron un vínculo entre la variante rs2501432 y el alcoholismo en la población japonesa.

1.5. Cannabis y variabilidad genética en receptores del sistema endocannabinoide: efectos sobre la heterogeneidad clínica

1.5.1. Efecto del consumo de cannabis sobre los síntomas psicóticos

La acción alucinógena del cannabis mediada por el CB1R se describió en 1988 (217). Mientras que la administración aguda de THC producen un aumento de los niveles de dopamina en el estriado en relación con el placebo, el consumo crónico de cannabis se ha asociado con una capacidad reducida de síntesis de dopamina en dicha región (218). Así, el consumo de cannabis a largo plazo se ha relacionado con alteraciones de la dopamina en el cuerpo estriado (219), que, según la evidencia, es un nodo neural relevante en la emergencia de los síntomas psicóticos positivos (119). De esta manera, el efecto de la activación del CB1R (distribuido a su vez en áreas implicadas en el circuito neural implicado en la psicosis), podría explicar, al menos en parte, los síntomas psicóticos inducidos por el THC (220–225).

En ensayos clínicos en voluntarios sanos se ha demostrado que los cannabinoides pueden inducir síntomas psicóticos transitorios, tanto positivos (226–229), como negativos (226). El estudio de D'Souza et al. (226), documentó un aumento de los síntomas positivos, negativos y generales de la psicosis medidos a través de las subescalas de la Positive and Negative Symptom Scale (PANSS) cuando se administró THC por vía intravenosa a sujetos sanos. Una revisión sistemática y metaanálisis en población sana de estudios en los que se administra THC, describe que una única administración del mismo producía síntomas positivos y negativos, con gran tamaño de efecto (230), es decir, pueden ser muy significativos o intensos. Con resultado similar, un metaanálisis reciente de ensayos clínicos aleatorizados y estudios observacionales llevados a cabo en población general acerca del efecto del consumo de cannabis, reporta su asociación con los síntomas positivos y negativos (92). Sin embargo, cuando se trata de sujetos sanos consumidores habituales de cannabis, el efecto se ha observado atenuado o ausente (231,232). La evidencia que respalda esta asociación entre el consumo de cannabis y los síntomas psicóticos en sujetos sanos se ve reforzada por hallazgos de la resonancia magnética funcional. Dichos hallazgos informan de una asociación entre los efectos psicomiméticos del THC y la activación funcional de regiones del cerebro como el estriado (233–235) que, como

mencionábamos previamente, juega un papel clave en la regulación de la dopamina. En concreto, el aumento de su actividad se ha asociado con la generación y la gravedad de los síntomas psicóticos, medidos a través de la subescalas de la PANSS, inducidos bajo su influencia (233,235).

En cuanto a estudios experimentales en pacientes con psicosis, en un reciente ensayo controlado aleatorizado a doble ciego de pacientes con esquizofrenia y uso de cannabis, la administración de THC oral empeoró la sintomatología negativa de manera dosis dependiente (236). Sin embargo, otro estudio anterior que incluyó a pacientes con esquizofrenia y trastorno por uso de cannabis concurrente no reportó cambios en los síntomas con la administración de una dosis de THC oral y fumado (237).

En estudios observacionales en pacientes con psicosis, el consumo de cannabis se ha relacionado con síntomas más persistentes y severos en muestras tanto de esquizofrenia (88,238), como de psicosis de inicio reciente (239–243) o de psicosis sin especificar (244). En concreto, encontraron que los sujetos que consumieron cannabis presentaban mayor severidad de los síntomas positivos (245,246) y mayores tasas de recaída psicótica (240,241), mientras que el cese del consumo de cannabis se ha relacionado con mejoras significativas en los síntomas psicóticos positivos y negativos, la psicopatología general y funcionalidad (239,247–249). En un estudio de pacientes con PEP, los consumidores de cannabis mostraron más síntomas psicóticos positivos y menos negativos al ingreso, pero tras seis meses, sus síntomas positivos disminuyeron más que en los no consumidores. Los mejores resultados (puntuaciones más bajas en la PANSS positiva, general y total) se observaron en quienes consumieron cannabis al inicio pero dejaron de hacerlo a los seis meses, mientras que los no consumidores tuvieron los peores resultados y los que continuaron consumiendo tuvieron un resultado intermedio (239). En esta línea, Seddon et al. (243) observaron que el uso continuo de cannabis después del primer episodio psicótico se asocia con un peor resultado al año en la puntuación total de la Escala de Síndrome Positivo y Negativo.

Englobando todo lo anterior, un metaanálisis que reunió datos de más de 16.500 pacientes con psicosis concluyó que el consumo continuo de cannabis después del inicio de la psicosis predice resultados adversos, incluidos síntomas positivos más

graves, que para las personas que interrumpen el consumo de cannabis y los que no lo consumen, así como asociaciones entre el consumo continuo de cannabis y un mayor riesgo de recaída psicótica, hospitalización y hospitalización más prolongada (250).

1.5.2. Efecto de la variabilidad genética de *CNR1* y *CNR2* sobre los síntomas psicóticos

En relación a los diferentes estudios que han demostrado asociaciones de variantes genéticas *CNR1* con los síntomas de psicosis, se han encontrado asociaciones con síntomas tanto positivos (251,252), como negativos (251–253) y desorganizados (193,253).

El primer estudio que relacionó la variabilidad de *CNR1* con un subtipo de esquizofrenia (en este caso, pacientes con un trastorno de abuso de sustancias) fue el de Leroy et al. (254), en personas de origen Europeo. En concreto, en este estudio describen frecuencias alélicas diferentes entre pacientes consumidores y no consumidores, pero no entre pacientes y controles. En el estudio longitudinal a tres años de Suárez-Pinilla et al. (252), que se realizó en una muestra de pacientes con PEP, una de las tres variantes genéticas de *CNR1* estudiadas se asoció con mejoras en las puntuaciones en los síntomas positivos y negativos en el momento de medición del seguimiento. Por el contrario, Zammit et al. 2007 (186) no demostraron ninguna asociación entre los genotipos *CNR1* y diversos aspectos clínicos evaluados en pacientes con esquizofrenia (edad de inicio, funcionalidad, síntomas y curso de la enfermedad). Tampoco en otro estudio de asociación en pacientes con trastornos anímicos se demostró la hipótesis de que la repetición del triplete AAT del gen *CNR1* pudiera estar asociado a sintomatología psicótica (255). Dada la heterogeneidad de los resultados, en una revisión sistemática de estudios de asociación del gen *CNR1* con la expresión clínica de la esquizofrenia, Gouvêa et al. (194) enfatizan la necesidad de realizar más investigaciones sobre el papel de la genética endocannabinoide y sus fenotipos asociados.

La investigación sobre la variabilidad genética de *CNR2* en la psicosis es escasa y se basa principalmente en análisis de asociación del riesgo de esquizofrenia (196,210),

como se ha comentado previamente en el apartado 4.4.3. Sin embargo, es destacable que el gen *CNR2* se identificó como locus significativo en un GWAS de experiencias psicóticas angustiosas (256) en población general. Una revisión de estudios modelos animales centrados en el gen *CNR2* y en síntomas asociados con la esquizofrenia inducidos mediante la modulación del CB2R, concluyó que este receptor desempeña un papel crucial en la regulación de conductas vinculadas a la ansiedad, la depresión, la cognición y la locomoción, todas ellas estrechamente relacionadas con los síntomas de la esquizofrenia (257).

1.5.3. Interacción del consumo de cannabis y genes *CNR1* y *CNR2* sobre los síntomas psicóticos

Como comentado en apartados anteriores, son varios los estudios que han analizado la influencia de los genotipos *CNR1* y *CNR2* sobre los síntomas psicóticos, sin embargo, no tantos han evaluado la interacción de estos con el consumo de cannabis.

En sujetos sanos, las variantes genéticas del *CNR1* se han asociado con un incremento del riesgo a experimentar síntomas psicóticos después de consumir marihuana (258). Van Winkel et al. (259), en hermanos no afectados de pacientes con esquizofrenia, considerados portadores obligados de vulnerabilidad genética, observaron un efecto de interacción entre los polimorfismos de *CNR1* y el consumo reciente de cannabis en los síntomas y signos esquizotípicos.

En cuanto a sujetos con psicosis, algunos estudios han evaluado este efecto interacción entre variables genéticas de receptores cannabinoides y consumo de cannabis sobre el riesgo de esquizofrenia (185,186), con resultados positivos y negativos respectivamente, como está descrito en el apartado 4.3.3., pero apenas se ha investigado este efecto interactivo entre ambos factores sobre los síntomas psicóticos. Encontramos al respecto los hallazgos de Rojnic et al. (260) que describen un efecto interacción entre el consumo de cannabis y los genotipos del *CNR1*-rs12720071 y rs7766029 en el cambio de estrés percibido, si bien no se trata de un síntoma psicótico como tal. Más adelante (ver apartado 1.6.4.) comentaremos este efecto de interacción sobre la función cognitiva, en que sí existe más evidencia.

Respecto del gen *CNR2*, hasta la fecha existen muy escasos estudios que hayan analizado la interacción de variantes genéticas del mismo con el consumo de cannabis sobre los síntomas psicóticos. Excepcionalmente, Legge et al. (256), en un estudio en población general, estudian, con resultado negativo, la interacción entre *CNR2*-rs754559873 y el consumo de cannabis sobre experiencias psicóticas angustiantes.

1.6. Cannabis y variabilidad genética en receptores del sistema endocannabinoide: efectos sobre el rendimiento cognitivo y sus correlatos neurobiológicos

1.6.1. Efecto del consumo de cannabis sobre la función cognitiva

Se ha descrito que el CB1R es uno de los receptores más ampliamente expresados en el cerebro, incluidas aquellas áreas involucradas en la atención y en la memoria de trabajo (MT), como la corteza prefrontal, el hipocampo, el cuerpo estriado y el caudado (261). Coherentemente, diversos estudios han demostrado que la señalización endocannabinoide es esencial para la adquisición de la memoria (262–265).

El consumo persistente de cannabis, especialmente si comienza en la adolescencia, se asocia con deterioro en la velocidad de procesamiento y el control inhibitorio, como se vio en una cohorte de individuos seguida desde nacimiento (266). Además, se ha descrito una relación dosis-respuesta, siendo más pronunciado el efecto del cannabis en el rendimiento cognitivo en consumidores frecuentes y de cannabis con alto contenido en THC (267).

Los estudios basados en modelos animales apoyan el efecto de los cannabinoides sobre la MT (revisado en Lichtman et al. (268)). En estudios experimentales con ratones, generalmente los agonistas de los receptores cannabinoides, como Δ^9 -THC, anandamida, CP-55,940 y WIN55,212-2 producen deterioro de la MT, mientras que rimonabant, un antagonista de CB1R, mejora la MT (269–273). En un estudio con ratas se observó que el consumo crónico de Δ^9 -THC en la adolescencia es perjudicial para el aprendizaje y la memoria cuando los efectos se miden específicamente en el período “post-agudo”; la medición en dicho momento representa bien los patrones de consumo de cannabis en adolescentes humanos (274). En cambio, Rubino et al. (275)

demonstraron que la administración crónica de $\Delta 9$ -THC en la adolescencia también puede inducir deterioro cognitivo en ratas adultas hembras. De manera similar, se ha informado que la administración crónica de WIN55,212-2 durante la adolescencia conduce a déficits en la memoria de reconocimiento, pero no si se administra en la edad adulta (276). Como se ha reflejado en apartados anteriores, la adolescencia puede considerarse como un período vulnerable a los cambios cognitivos debido, en este caso, a la manipulación farmacológica de la señalización endocannabinoide.

Los estudios experimentales controlados en participantes sanos han demostrado que la administración de THC produce deterioros cognitivos transitorios en la MT, el recuerdo y el control ejecutivo de la atención (226). Un metaanálisis reciente de ensayos clínicos aleatorizados y estudios observacionales llevados a cabo en población general acerca de los efectos del consumo de cannabis también describe un empeoramiento cognitivo, destacando dominios como la MT o el recuerdo verbal (92). Otro metaanálisis de estudios experimentales humanos describe que la MT es uno de los dominios cognitivos más afectados por la administración aguda de agonistas parciales de los receptores endocannabinoides (como cannabis o nabilona) (277).

En cuanto a la dirección del efecto del cannabis en el rendimiento cognitivo en estudios observacionales en sujetos sanos, los datos actuales ofrecen resultados mixtos, probablemente debido a variaciones en la definición de consumo de cannabis o en la herramienta de medición cognitiva. Sin embargo, la tendencia es en general hacia un peor resultado cognitivo en sujetos consumidores de cannabis en comparación con los no consumidores (278,279). Se trata de alteraciones globales, siendo, según una revisión sistemática (280), los dominios del aprendizaje y la memoria verbal, y la atención, los afectados de manera más consistente.

Los efectos del cannabis sobre la cognición adquieren mayor relevancia en el contexto de la psicosis, donde puede exacerbar los déficits neurocognitivos característicos del trastorno, tales como la alteración en la MT (81). En personas con diagnóstico de trastorno psicótico hay algunos resultados de estudios experimentales que apuntan hacia un empeoramiento cognitivo asociado a la administración de THC (236,281,282), aunque son pocos los estudios de este tipo. Los estudios observacionales

muestran resultados contradictorios. Algunos de ellos muestran peor rendimiento en los consumidores; por ejemplo, un metaanálisis sobre pacientes jóvenes con psicosis (283) describe que los consumidores de cannabis presentan peor rendimiento en aprendizaje verbal y MT verbal. De manera similar, también se han reportado resultados que indican un mejor perfil neurocognitivo en aquellos pacientes no consumidores en muestras de PEP (284,285) en relación a los consumidores. Otros estudios no muestran empeoramiento cognitivo en consumidores de cannabis en muestras de esquizofrenia (286) ni de PEPs (287). En esta línea, un metaanálisis basado en PEP no detecta diferencias significativas entre pacientes consumidores y no consumidores (288). Sin embargo, varios estudios observacionales han replicado la paradoja de que son los consumidores los que muestran un mejor rendimiento en tareas cognitivas, tanto en personas con esquizofrenia (289), como con PEP (290,291), incluyendo un metaanálisis en cada tipo de muestra (292,293). En base a dichos resultados, se ha propuesto la hipótesis de que los sujetos con esquizofrenia consumidores de cannabis podrían representar un subgrupo con menos vulnerabilidad neurobiológica que los sujetos que no consumen (294), en cuanto que presentan menos signos neurológicos menores, menos déficits cognitivos estables y posiblemente un funcionamiento cerebral más parecido al de sujetos sanos. Cunha et al. (290), en línea con esta hipótesis, teorizan que la exposición al cannabis puede ser un requisito previo para el desarrollo del primer episodio de psicosis en un cerebro inicialmente relativamente “conservado”.

1.6.2. Efecto del consumo de cannabis sobre la actividad cerebral

Los estudios de resonancia magnética funcional (RMf) han permitido evaluar las bases neurobiológicas de las alteraciones cognitivas producidas por el cannabis, y en particular de la MT, mediante el uso de paradigmas relacionadas con esta dimensión cognitiva, como es el n-back. Los estudios de neuroimagen de RMf juegan un papel muy relevante ya que permiten comprender mejor los circuitos cerebrales funcionales subyacentes a las diferentes tareas cognitivas, tanto en sujetos sin patología, como en nuestro caso, en pacientes con PEP. En esta técnica de neuroimagen contamos fundamentalmente con dos tipos de estudio: 1) en reposo (“resting-state”), cuyo objetivo es analizar la conectividad funcional entre distintas áreas del cerebro y permite

identificar redes cerebrales activas de manera espontánea, como la red en modo predeterminado (“default mode network”); y 2) los estudios que se realizan durante la ejecución de tareas cognitivas concretas, para medir la actividad cerebral e identificar qué regiones cerebrales se activan en respuesta a la misma, ayudando a entender los mecanismos neuronales específicos que subyacen a las funciones cognitivas. En esta tesis, hemos utilizado un protocolo de RMf con el paradigma n-back [Figura 5], que ha permitido evaluar la actividad cerebral durante la realización de la tarea de MT, así como el rendimiento de los participantes en la realización de la tarea.

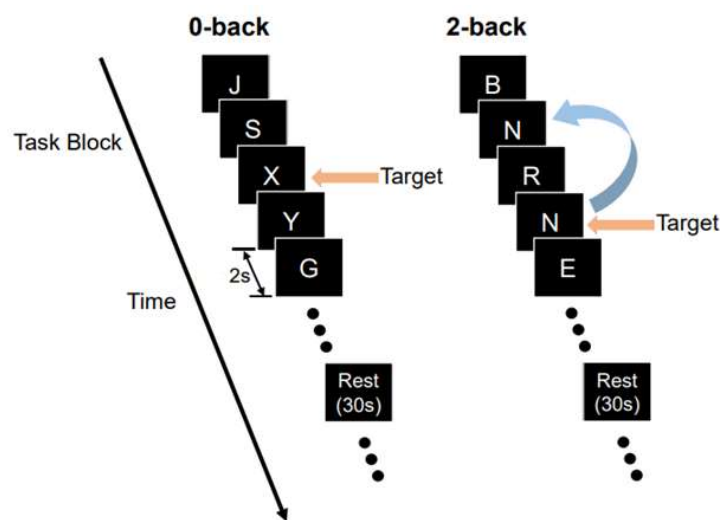


Figura 5. Diseño de la tarea n-back utilizada. La tarea tiene dos niveles de dificultad (1-back y 2-back), presentados en bloques. Cada bloque consiste en 24 letras que se muestran cada 2 segundos (1 segundo encendido, 1 segundo apagado), y que contiene cinco repeticiones aleatoriamente. A los individuos se les pide que indiquen las repeticiones presionando un botón. Se presentan cuatro bloques 1-back y cuatro 2-back de manera intercalada, y entre ellos, se presenta un estímulo de referencia (un asterisco que parpadeaba con la misma frecuencia que las letras) durante 16 segundos. Los caracteres se mostraban en verde para los bloques 1-back y en rojo para los bloques 2-back. Todos los participantes pasan primero por una sesión de entrenamiento fuera del escáner. Adaptado de (295).

Los estudios de RMf en sujetos sanos consumidores de cannabis indican una actividad cerebral alterada, tanto en estado de reposo como durante la realización de tareas cognitivas, en las regiones involucradas en el procesamiento de las mismas (para una revisión detallada, ver (296,297)). En concreto, varios grupos han informado repetidamente que los compuestos cannabinoides perjudican la memoria al alterar las

señales BOLD en las regiones frontal, límbica y mediotemporal (263,298,299). En relación a las tareas de MT y atención específicamente, la mayoría de los estudios basados en consumidores sanos de cannabis de RMf informan cambios en los patrones de activación asociados con la realización de la tarea en cuestión (299–302). Algunos estudios han encontrado una asociación entre el consumo de cannabis y una mayor activación de corteza prefrontal dorsolateral (CPDL) durante la realización de tareas de MT, a pesar de tener un rendimiento similar en la realización de la tarea ((303), utilizó la tarea de n-back) o incluso menor ((304), empleó el paradigma de Stenberg). Este resultado puede interpretarse a la luz de modelos anteriores (305) que postulan que un aumento en el reclutamiento prefrontal cuando el rendimiento es parecido o inferior durante la MT es un indicador de una participación ineficiente de los recursos prefrontales.

Esta observación es coherente con estudios que han evaluado la conectividad funcional en reposo en adolescentes consumidores de cannabis, los cuales han documentado patrones de conectividad alterados que afectan el tráfico interhemisférico y la red frontotemporal (306–308). Sin embargo, las conclusiones de los estudios disponibles son marcadamente inconsistentes y difícilmente comparables debido a varios factores de confusión.

Con respecto a los estudios de RMf en personas con psicosis la evidencia es escasa, si tenemos en cuenta solamente aquellos estudios de pacientes psicóticos que diferencian los consumidores de cannabis de los que consumen otras sustancias. Existen cuatro estudios previos de este tipo, con tamaños de muestra limitados de pacientes con esquizofrenia. Los tres primeros estudios informan de un funcionamiento cerebral mejor preservado en pacientes consumidores. Concretamente lo aprecian en áreas asociadas con el procesamiento emocional (corteza prefrontal medial) (309), y en áreas relacionadas con el procesamiento verbal y la atención (corteza cingulada posterior, lóbulo parietal inferior y giro precentral) y el funcionamiento ejecutivo (CPDL) (309–311). Este patrón está en consonancia con lo informado en varios artículos que evalúan las diferencias neuroanatómicas o neurocognitivas en la psicosis entre consumidores y no consumidores de cannabis, a favor de un mejor funcionamiento cognitivo en los pacientes consumidores (290,293,312). Estos hallazgos sugerirían tentativamente que

los procesos neurofisiológicos que subyacen a las funciones cognitivas estudiadas mediante las tareas de RMf, están parcialmente preservados en los pacientes con esquizofrenia consumidores de cannabis, en relación con los que no lo son. Por contra, el trabajo más reciente ha utilizado una tarea de decisión con dos opciones, relacionada con el mecanismo cerebral de recompensa, y ha mostrado un mejor rendimiento en la tarea y una mayor actividad del tálamo y la ínsula en individuos con esquizofrenia de primer episodio que no consumen cannabis, en comparación con los pacientes que consumían en el momento de la realización del estudio (313).

1.6.3. Efecto de la variabilidad genética de *CNR1* y *CNR2* sobre la cognición y la actividad cerebral

Las variantes genéticas de los receptores cannabinoides se han asociado en diversos estudios con el rendimiento cognitivo, y específicamente con la MT. Las variables de los polimorfismos del gen *CNR1* (polimorfismos [AAT]_n y rs2180619) se han asociado en sujetos sanos con diferencias en la eficiencia de la MT, además del procesamiento atencional y el aprendizaje procedimental (314–316). También en adultos jóvenes sanos se ha relacionado el polimorfismo *CNR1* rs2180619 con el rendimiento de la MT, pero de manera específica en el aumento del nivel de complejidad de la tarea de MT (la diferencia en el desempeño entre una tarea de dificultad media y alta), encontrándose más dificultades cuando se enfrentan a una demanda alta en MT para un genotipo que otro (317). En cuanto a los estudios de RMf, un trabajo no reveló ningún efecto principal estadísticamente significativo del rs1406977 y el consumo de cannabis sobre la actividad cerebral durante la realización de la tarea n-back, pero sí mostró un efecto en el desempeño de la tarea de MT (318). En otro estudio que midió la actividad prefrontal, también durante la realización de la tarea de n-back, no se observó ningún efecto principal de *CNR1*-rs1406977, pero igualmente se asoció con el desempeño en la realización de la tarea (303).

En cuanto a la literatura acerca de *CNR1* y cognición en sujetos con psicosis, en un estudio centrado en personas con esquizofrenia (319) se reportó que *CNR1* rs12720071 tenía un efecto sobre la velocidad de procesamiento/atención y la

resolución de problemas. En pacientes con PEP se describió que el polimorfismo *CNR1* rs7766029 se asociaba con más empeoramiento en MT y atención tras 18 meses de tratamiento (260). Por último, Ferretjans et. al (320) en pacientes con esquizofrenia muestran la asociación entre el polimorfismo *CNR1* rs12720071 y el rendimiento cognitivo de los pacientes en varios dominios cognitivos (velocidad motora, fluidez verbal, atención/velocidad de procesamiento y razonamiento/resolución de problemas), apoyando la hipótesis de que las variaciones de *CNR1* podrían estar asociados con la patogénesis de los déficits cognitivos de la esquizofrenia.

Si bien la investigación acerca del CB2R no es tan abundante como para el CB1R, diversos hallazgos apoyan la implicación de este receptor en las funciones cognitivas, especialmente en sujetos con psicosis. Se trata en su mayoría de estudios que evalúan la expresión del receptor, no la variabilidad genética de su gen codificante. Estos estudios describen una mayor expresión de CB2R en las células inmunes innatas en pacientes con esquizofrenia, junto con niveles alterados de citocinas, lo que indica una inmunomodulación alterada (321). En un estudio en pacientes con esquizofrenia y controles sanos, la mayor expresión de los CB2Rs en los linfocitos T y monocitos se asoció con un rendimiento cognitivo deficiente, medido por la escala SCoRS (Schizophrenia Cognition Rating Scale) (322). De manera similar, en otra muestra de pacientes con esquizofrenia, mayores niveles de ARNm de CB2R se asociaron con un peor rendimiento en tareas de atención (130). Otros autores han planteado la hipótesis de que los pacientes con esquizofrenia podrían presentar un CB2R disfuncional, puesto que se han descrito ciertos alelos vinculados a una menor función de CB2R (210); concretamente la variabilidad alélica se ha relacionado en este estudio con cambios tanto a nivel de expresión (ARNm) y de proteína, como con diferencias de afinidad del receptores por sus ligandos. Estos hallazgos respaldan colectivamente la hipótesis de que la disfunción del CB2R podría contribuir a la fisiopatología de la esquizofrenia al afectar la regulación de la neuroinflamación y alterar las redes neuronales, lo que potencialmente conduciría a déficits cognitivos asociados con el trastorno (322). En esta línea, los agonistas de CB2R demuestran efectos antiinflamatorios en condiciones inflamatorias, incluyendo la inhibición de la liberación de mediadores inflamatorios, lo que puede ser relevante para los trastornos neuropsiquiátricos (323). También se ha

reportado la asociación entre la expresión proteica en células mononucleares de sangre periférica de CB2R y enzimas de síntesis y degradación de endocannabinoides, y la MT en un estudio de individuos con un PEP (324). Otra evidencia describe una asociación nominal entre el polimorfismo *CNR2* rs2229579 y el rendimiento en MT evaluada a través de la escala BACS (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia) en pacientes con esquizofrenia (320). Estudios con diferentes modelos animales de esquizofrenia apoyan también el papel de CB2R en la neurobiología subyacente a la cognición (257).

1.6.4. Interacción del consumo de cannabis y genes *CNR1* y *CNR2* sobre la cognición y la activación cerebral

La modulación genética de los efectos del cannabis sobre los fenotipos cerebrales se ha estudiado tanto desde aproximaciones morfológicas como funcionales. Por un lado, encontramos estudios morfológicos en sujetos sanos, como el estudio de Schacht et al. (325), que informó una interacción entre el rs2023239 de *CNR1* y el consumo de cannabis en los volúmenes bilaterales del hipocampo. Por otro lado, en estudios de neuroimagen funcional también en individuos sin patología se ha descrito un efecto de interacción entre el rs1406977 de *CNR1* y el consumo de cannabis sobre el rendimiento en la realización de la tarea de n-back (303,318) y sobre la conectividad de la corteza prefrontal (318). De manera interesante, un enfoque poligénico basado en la red de co-expresión genética de *CNR1* destacó la interacción entre el consumo de cannabis y esta puntuación poligénica en la actividad prefrontal dorsolateral durante la realización de la tarea de n-back en sujetos sanos (326). En conjunto, estos datos sugieren que el consumo de cannabis afecta la relación fisiológica entre la expresión génica de *CNR1* y el procesamiento prefrontal de la MT, tratándose de una red genética implicada en la señalización endocannabinóide y la eficiencia del procesamiento de la información en las redes neuronales que subyacen a los procesos cognitivos implicados en la memoria.

Los estudios basados en pacientes con esquizofrenia que han evaluado tanto el cannabis como los efectos genéticos sobre los déficits cognitivos son aún más escasos.

Ho et. (319) al encontraron que el abuso o dependencia de cannabis en el contexto de genotipos *CNR1* específicos puede contribuir a mayores déficits de volumen de materia blanca y a deterioro de algunos dominios cognitivos, lo que a su vez podría aumentar el riesgo de esquizofrenia. En esta línea también otros estudios en pacientes con esquizofrenia y PEP respectivamente (252,327) han descrito que el consumo de cannabis, en el contexto de determinados genotipos *CNR1*, puede contribuir a reducciones en el volumen cerebral. Hasta donde alcanza nuestro conocimiento ningún estudio ha investigado los efectos de *CNR2* y su interacción con el consumo de cannabis sobre las características neurocognitivas, ni en sujetos sanos ni con psicosis (ni tampoco, por tanto, en PEP).

Finalmente, en relación con el análisis de la interacción entre las variantes genéticas de ambos receptores endocannabinoides CB1R y CB2R y el consumo de cannabis en pacientes con psicosis mediante RMf, según sabemos, no existen estudios publicados.

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

La interacción entre factores genéticos y el consumo de cannabis, con especial atención al papel modulador del sistema endocannabinoide, ha emergido como un área de interés primordial en la investigación sobre los trastornos psicóticos. Este sistema interactúa con el dopaminérgico y otros sistemas neuroquímicos implicados en la neurobiología de los trastornos psicóticos. A la vez, el foco de interés sobre los efectos del cannabis en la salud se ha visto incrementado debido a la expansión de la legalización del cannabis, que ha conllevado un aumento del consumo y, por tanto, de sus riesgos asociados.

Esta tesis se ha centrado en proporcionar un mejor conocimiento sobre algunos de los elementos que forman parte de la compleja arquitectura de los trastornos psicóticos desde un enfoque multifactorial que integra genética, neuroimagen y cognición. Por un lado, los análisis se han dirigido a desgranar si variantes genéticas específicas de los receptores cannabinoides pueden modular la sensibilidad individual a los efectos del cannabis. Es decir, desde un diseño de casos, incluyendo personas con un primer episodio psicótico consumidoras y no consumidoras de cannabis, la presente tesis se ha desarrollado sobre la hipótesis de que la variabilidad genética en el sistema endocannabinoide, centrada en los CB1Rs y CB2Rs, y la exposición al cannabis, explicaran parte de la variabilidad en la severidad de los síntomas, el rendimiento cognitivo y la funcionalidad cerebral observada en las primeras etapas del trastorno psicótico. Todos estos elementos formarían parte de un entramado de redes genéticas y de neurotransmisión subyacente al desarrollo de la enfermedad y, un mejor conocimiento de dichas bases biológicas favorecerá la definición de la heterogeneidad clínica y el pronóstico de los trastornos psicóticos.

De esta hipótesis general se han derivado tres hipótesis concretas:

1. El consumo de cannabis, demostrado factor de riesgo para el desarrollo de psicosis, tendrá un efecto *per se* sobre fenotipos clínicos, cognitivos y cerebrales

en personas con un primer episodio psicótico. Esperamos identificar diferencias a nivel de síntomas, rendimiento cognitivo y neuroimagen funcional entre pacientes consumidores y no consumidores de cannabis. Aportar en el impacto de este factor de riesgo puede ser de utilidad de cara al desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas, de cara a disminuir su consumo y/o las consecuencias de este en pacientes con psicosis.

2. Los genes del sistema endocannabinoide representan un conjunto de genes candidatos subyacentes a la fisiopatología de la psicosis. La variabilidad genética en los receptores cannabinoides, seleccionada por su implicación en el riesgo para trastornos psicóticos previamente descrita, se asociará con la expresión clínica, cognitiva y/o cerebral del trastorno. Esperamos que el tamaño del efecto observado sea pequeño debido a la condición polimórfica de las variantes genéticas estudiadas.
3. Las interacciones gen-ambiente se han descrito como un mecanismo etiológico de los trastornos psicosis. La variabilidad genética en los receptores cannabinoides modulará la sensibilidad individual a los efectos del cannabis sobre los fenotipos clínico y neurobiológico. Esperamos que el impacto del cannabis en la expresión sintomática, la cognición y la actividad cerebral varíe en función de los polimorfismos de los receptores cannabinoides

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

De las tres hipótesis se derivan dos objetivos, cada uno de los cuales representa uno de los artículos que componen la tesis:

OBJETIVO 1. Evaluar la relación entre el consumo de cannabis y fenotipo clínico (síntomas psicóticos y funcionalidad) y cognitivo (rendimiento cognitivo general evaluado por WAIS), en pacientes con un primer episodio psicótico. Este objetivo está compuesto por tres objetivos específicos:

1a. Examinar las diferencias a nivel clínico y cognitivo entre pacientes con un primer episodio psicótico atendiendo a si consumen o no cannabis.

1b. Estudiar los correlatos de variantes genéticas en genes que codifican para los receptores cannabinoides (*CNR1* y *CNR2*) con variables clínicas y cognitivas de interés en los trastornos psicóticos.

1c. Evaluar si los genes *CNR1* y *CNR2* median la relación entre el consumo de cannabis y la sintomatología psicótica y la función cognitiva en una muestra de pacientes con primer episodio psicótico.

OBJETIVO 2. Investigar los efectos del consumo de cannabis, de la variabilidad común en genes de los receptores del sistema endocannabinoide y de su interacción sobre la actividad cerebral en respuesta a la realización de una tarea de memoria de trabajo en primeros episodios psicótico mediante un protocolo de neuroimagen funcional. Para lograr este objetivo se han establecido tres objetivos específicos:

2a. Dada la relevancia de la señalización cannabinoide para la memoria de trabajo, analizar la posible influencia del consumo de cannabis en la actividad cerebral mientras se realiza una tarea de memoria de trabajo (n-back) durante un protocolo de resonancia magnética funcional

2b. Estudiar si la variabilidad genética común en los genes *CNR1* y *CNR2* subyace a diferencias funcionales cerebrales en pacientes con un primer episodio psicótico mientras realizan una tarea de memoria de trabajo.

2c. Investigar si el papel potencial del consumo de cannabis en la activación cerebral está modulado por la variabilidad genética individual en los genes de los receptores cannabinoides.

4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

4. MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

ARTÍCULO I

Clinical and cognitive outcomes in first-episode psychosis: focus on the interplay between cannabis use and genetic variability in endocannabinoid receptors

Maitane Oscoz-Irurozqui, Carmen Almodóvar-Payá, Maria Guardiola-Ripoll, Amalia Guerrero-Pedraza, Noemí Hostalet, Raymond Salvador, María Isabel Carrión, Teresa Maristany, Edith Pomarol-Clotet, Mar Fatjó-Vilas.

Frontiers in Psychology, 2024, 15, 1-9. DOI: 10.3389/fpsyg.2024.1414098. PMID: 39193030.

Título: Perfil clínico y cognitivo en el primer episodio de psicosis: énfasis en la interacción entre el consumo de cannabis y la variabilidad genética en los receptores endocannabinoides

Introducción. La evidencia científica muestra la implicación del sistema endocannabinoide (SEC) en la psicosis a través de sus funciones homeostáticas de neurotransmisión. Sin embargo, el efecto de la variabilidad genética del SEC en la relación entre el consumo de cannabis y la expresión clínica y cognitiva en las fases tempranas de los trastornos psicóticos ha sido escasamente explorado y menos aún en pacientes con un primer episodio de psicosis (PEP). A través de un diseño de casos con PEP, investigamos el efecto del consumo de cannabis y la variabilidad genética de los receptores endocannabinoides en los fenotipos clínicos y cognitivos.

Métodos. La muestra comprendió 50 pacientes con PEP de ascendencia europea (edad media (DE) = 26,14 (6,55) años, 76% varones), clasificados como consumidores de cannabis (58%) o no consumidores de cannabis. Se analizó el genotipo de dos polimorfismos de nucleótido único: uno en el gen del receptor cannabinoide tipo 1 (*CNR1* rs1049353) y otro en el gen del receptor cannabinoide tipo 2 (*CNR2* rs2501431). Se llevaron a cabo evaluaciones clínicas (PANSS, GAF) y neuropsicológicas (WAIS, WMS, BADS). Mediante modelos de regresión lineal, examinamos el efecto principal del

consumo de cannabis y su interacción con las variantes genéticas de los receptores cannabinoides sobre los perfiles clínicos y cognitivos.

Resultados. En primer lugar, en lo que respecta a los efectos del cannabis, nuestros datos mostraron una tendencia hacia una mayor severidad de síntomas positivos (PANSS, $p = 0,05$) y un mejor rendimiento en habilidades manipulativas (test de matrices-WAIS, $p = 0,041$) entre los consumidores de cannabis en comparación con los no consumidores. En segundo lugar, con relación a los efectos genotípicos, los portadores del alelo T del *CNR1* rs1049353 presentaron una mayor severidad de los síntomas desorganizados (que los homocigotos CC; $p = 0,014$). En tercer lugar, detectamos que la asociación observada entre el consumo de cannabis y las habilidades manipulativas está modulada por el polimorfismo rs2501431 del gen *CNR2* ($p = 0,022$): los consumidores de cannabis portadores del alelo G mostraron un mejor rendimiento que los portadores del genotipo AA, mientras que los no consumidores de cannabis presentaron el patrón genotipo-rendimiento opuesto. Esta interacción gen-ambiente mejoró significativamente el ajuste general del modelo que incluía solo cannabis ($\Delta R^2 = 8,4\%$, $p = 0,019$).

Conclusiones. A pesar de la naturaleza preliminar de la muestra, nuestros hallazgos apuntan hacia el impacto del cannabis en los síntomas psicóticos positivos y en la cognición. En cuanto a la genética, los resultados muestran un efecto de las variantes genéticas del gen *CNR1* en la gravedad de los síntomas desorganizados del PEP y de *CNR2* en la modulación del rendimiento cognitivo condicionado al consumo de cannabis. Esto pone de relieve la necesidad de una mejor caracterización del papel combinado de la variabilidad genética del sistema endocannabinoide y el consumo de cannabis en la comprensión de la fisiopatología de la psicosis.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Patricia Correa-Ghisays,
Center for Biomedical Research in Mental
Health Network (CIBERSAM), Spain

REVIEWED BY
Maria Jesús Luque-Rojas,
University of Malaga, Spain
Joan Vicent Sánchez Ortí,
Institute of Health Research (INCLIVA), Spain

*CORRESPONDENCE
Mar Fatjó-Vilas
✉ mfatjo-vilas@fidmag.org
Edith Pomarol-Clotet
✉ epomarol-clotet@fidmag.org

†These authors have contributed equally to
this work and share senior authorship

RECEIVED 08 April 2024
ACCEPTED 17 July 2024
PUBLISHED 12 August 2024

CITATION
Oscos-Iruozqui M, Guardiola-Ripoll M,
Almodóvar-Payá C, Guerrero-Pedraza A,
Hostalet N, Carrion MI, Sarró S, Gomar J,
Pomarol-Clotet E and Fatjó-Vilas M (2024)
Clinical and cognitive outcomes in
first-episode psychosis: focus on the interplay
between cannabis use and genetic variability
in endocannabinoid receptors.
Front. Psychol. 15:1414098.
doi: 10.3389/fpsyg.2024.1414098

COPYRIGHT
© 2024 Oscos-Iruozqui, Guardiola-Ripoll,
Almodóvar-Payá C, Guerrero-Pedraza A,
Carrion, Sarró, Gomar, Pomarol-Clotet and
Fatjó-Vilas. This is an open-access article
distributed under the terms of the Creative
Commons Attribution License (CC BY). The
use, distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in
this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Clinical and cognitive outcomes in first-episode psychosis: focus on the interplay between cannabis use and genetic variability in endocannabinoid receptors

Maitane Oscos-Iruozqui^{1,2}, Maria Guardiola-Ripoll^{1,3},
Carmen Almodóvar-Payá^{1,4,5}, Amalia Guerrero-Pedraza^{1,6},
Noemí Hostalet^{1,4,5}, María Isabel Carrion^{1,7}, Salvador Sarró^{1,4},
JJ Gomar^{1,8}, Edith Pomarol-Clotet^{1,4*†} and Mar Fatjó-Vilas^{1,4,5*†}

¹FIDMAG Germanes Hospitalàries Research Foundation, Barcelona, Spain, ²Red de Salud Mental de
Gipuzkoa, Osakidetza-Basque Health Service, Gipuzkoa, Spain, ³Centro de Investigación Biomédica
en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain, ⁴Centro de
Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Instituto de Salud Carlos III, Madrid,
Spain, ⁵Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia,
Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁶Hospital Benito Menni CISM, C/Doctor Antoni Pujadas,
Barcelona, Spain, ⁷Hospital Sant Rafael, Passeig de la Vall d'Hebron, Barcelona, Spain, ⁸The Litwin-
Zucker Alzheimer's Research Center, The Feinstein Institutes for Medical Research, Manhasset, NY,
United States

Introduction: Research data show the impact of the endocannabinoid system on psychosis through its neurotransmission homeostatic functions. However, the effect of the endocannabinoid system genetic variability on the relationship between cannabis use and psychosis has been unexplored, even less in first-episode patients. Here, through a case-only design, we investigated the effect of cannabis use and the genetic variability of endocannabinoid receptors on clinical and cognitive outcomes in first-episode psychosis (FEP) patients.

Methods: The sample comprised 50 FEP patients of European ancestry (mean age (sd) = 26.14 (6.55) years, 76% males), classified as cannabis users (58%) or cannabis non-users. Two Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) were genotyped at the cannabinoid receptor type 1 gene (*CNR1* rs1049353) and cannabinoid receptor type 2 gene (*CNR2* rs2501431). Clinical (PANSS, GAF) and neuropsychological (WAIS, WMS, BADS) assessments were conducted. By means of linear regression models, we tested the main effect of cannabis use and its interaction with the polymorphic variants on the clinical and cognitive outcomes.

Results: First, as regards cannabis effects, our data showed a trend towards more severe positive symptoms (PANSS, $p=0.05$) and better performance in manipulative abilities (matrix test-WAIS, $p=0.041$) among cannabis users compared to non-users. Second, concerning the genotypic effects, the T allele carriers of the *CNR1* rs1049353 presented higher PANSS disorganization scores than CC homozygotes ($p=0.014$). Third, we detected that the observed association between cannabis and manipulative abilities is modified by the *CNR2* polymorphism ($p=0.022$): cannabis users carrying the G allele displayed better manipulative abilities than AA genotype carriers, while the cannabis non-users presented the opposite genotype-performance pattern.

Such gene–environment interaction significantly improved the overall fit of the cannabis-only model ($\Delta R^2 = 8.4\%$, $p = 0.019$).

Discussion: Despite the preliminary nature of the sample, our findings point towards the role of genetic variants at *CNR1* and *CNR2* genes in the severity of the disorganized symptoms of first-episode psychosis and modulating cognitive performance conditional to cannabis use. This highlights the need for further characterization of the combined role of endocannabinoid system genetic variability and cannabis use in the understanding of the pathophysiology of psychosis.

KEYWORDS

first episode psychosis, cannabis, cannabinoid receptors genes (*CNR1* and *CNR2*), symptoms, cognition

1 Introduction

Schizophrenia (SZ) is a complex psychiatric disorder with a lifetime prevalence of 5.5/1000 (McGrath et al., 2008). Positive symptoms include hallucinations, delusions and disorganized thought (manifested in speech and behavior); while negative symptoms include blunted affect, anhedonia, avolition, and social withdrawal. SZ is also characterized by cognitive deficits affecting memory, attention, and executive functions. These manifestations are associated with functional and social impairment, placing SZ as a major cause of disability worldwide (Murray et al., 1996).

The current knowledge indicates that the origin of SZ must be understood by the combination of multiple genetic and environmental factors (Zwicker et al., 2018). Among different environmental factors, cannabis use has been consistently associated with the risk for psychosis (Di Forti et al., 2014; Marconi et al., 2016). Its use is associated with a 2-fold risk for schizophrenia-spectrum disorders, which increases up to almost a 4-fold risk in cannabis heavy users (Marconi et al., 2016).

In a systematic review and meta-analysis, cannabis use in patients with SZ and other psychotic disorders has been linked to more severe positive symptoms (Schoeler et al., 2016). Particularly in early psychosis, some studies have also reported that the severity of psychotic symptoms is higher in cannabis users both in positive (Grech et al., 2005; Baeza et al., 2009; Seddon et al., 2016) and negative symptoms (Seddon et al., 2016), while others did not find any effect of cannabis on psychotic symptomatology (Barrowclough et al., 2015).

Focusing on cannabis effects on cognition, review works that summarize evidence in healthy subjects conclude that cognitive deficits associated with cannabinoids (both acute and chronic exposure) are rather global, with the domains of verbal memory, attention and executive functioning being affected most consistently (Broyd et al., 2016; Cohen and Weinstein, 2018). Regarding studies based on patients with a diagnosis within the psychosis spectrum, some studies describe a worse cognitive performance associated with cannabis use (Núñez et al., 2016; Bogaty et al., 2018); others show a better performance (Löberg and Hugdahl, 2009; Yücel et al., 2012; Schoeler et al., 2016), and there are also studies showing no effect (Bugra et al., 2013). Such diverse results must be accounted by several social, clinical and cannabis composition factors but may also be related to the biologically influenced sensitivity to the cannabis effects (Henquet et al., 2008).

In search for the biological mechanisms responsible for these heterogeneous effects of cannabis use on psychosis, several lines of evidence have implicated the endocannabinoid system (ECS) [for a review, see (Garani et al., 2021)]. The ECS is mainly composed of endogenous ligands and their receptors [the predominantly central cannabinoid receptor type 1 (CB1R) and mostly peripheral type 2 receptor (CB2R)]. The endocannabinoid system functions by engaging with various neurotransmission systems and regulating numerous cognitive and emotional reactions within the central nervous system, thereby contributing to maintaining brain homeostasis (Wolf et al., 2008; Ibarra-Lecue et al., 2018). Exogenous cannabinoids bind to cannabinoid receptors, and, in that way, cannabis use can disturb physiological control of the endogenous cannabinoid system over the release of other neurotransmitters. This may ultimately lead to the development of psychosis or SZ depending on frequency, dose, and brain maturation status at exposure (Bossong and Niesink, 2010), as well as on the individual genetic background (Bloque et al., 2019).

Specifically, the cannabis effects are mediated by its main psychoactive component, Δ^9 -THC, which is a partial agonist of ECS receptors. The genes encoding CB1R and CB2R (*CNR1* and *CNR2*, respectively), have been proposed as candidate genes associated with psychosis and SZ. However, there is conflicting evidence regarding whether different polymorphisms in these genes are associated with specific clinical and cognitive phenotypes of psychosis.

On the one hand, different studies have shown associations between *CNR1* genetic variants and the psychosis outcome, including positive (Çöpöglü et al., 2015; Suárez-Pinilla et al., 2015), negative (Ujike et al., 2002; Chavarria-Siles et al., 2008; Çöpöglü et al., 2015; Suárez-Pinilla et al., 2015) and disorganized symptoms (Chavarria-Siles et al., 2008; Çöpöglü et al., 2015). Van Winkel et al. (2011), focusing on unaffected siblings of patients with SZ as obligate carriers of genetic vulnerability, found significant associations between *CNR1* SNPs and schizotypal symptoms and signs, as well as a *CNR1* × cannabis recent use interaction effect.

Literature about *CNR2* genetic variability in psychosis is scarce, and it is mainly based on case–control association analyses about the risk of developing SZ (Ishiguro et al., 2010; Tong et al., 2013; EO et al., 2014). Also, a study based on a sample of healthy individuals reported an effect of *CNR2* on distressing psychotic experiences, such as visual hallucinations, auditory hallucinations, delusions of reference or delusions of persecution (Legge et al., 2019).

Genetic variants of *CNR1* have also been associated with cognitive performance in several dimensions, but most studies have been carried out in healthy individuals (Ruiz-Contreras et al., 2011, 2013, 2014, 2017; Colizzi et al., 2015; Taurisano et al., 2016). Remarkably, an interaction effect between cannabis use and the CB1-related co-expression gene network on dorsolateral prefrontal activity during working memory performance has been described in healthy subjects (Taurisano et al., 2021). Also, the interplay between cannabis use and *CNR1* genetic variants has been reported on brain volumes in healthy subjects (Hill et al., 2016). On the other hand, only few studies have evaluated such effects in psychotic patients. Cross-sectional studies describe associations between certain *CNR1* polymorphisms and cognitive performance across different domains in SZ patients (Ho et al., 2011; Ferretjans et al., 2022). In subjects with a first-episode of psychosis (FEP), another *CNR1* polymorphism was associated with differential improvements in verbal memory and attention after 18 months of treatment (Rojnic Kuzman et al., 2019). Also, it has been shown the role of cannabis exposure as a moderating factor in the link between *CNR1* genotypes and neurocognitive measures in patients with SZ (Ho et al., 2011).

As far as we know, no studies have comprehensively investigated the effects of *CNR2* on clinical and neurocognitive phenotypic features in FEP patients, nor its interaction with cannabis use. A piece of evidence comes from a study that found that one polymorphism at *CNR2* was nominally associated with the performance of a working memory test in patients with SZ (Ferretjans et al., 2022). Also, different authors have indicated the role of *CNR2* in memory function in animal model-based studies using knock-out specimens or assessing CB2R expression (Wu et al., 2013; Li and Kim, 2017; Schmöle et al., 2018).

The aforementioned points underscore the need for extensive research into the impact of cannabis use on FEP outcomes, as well as the involvement of cannabinoid receptors in modulating these effects. Then, by means of a case-only study design, we aimed to investigate whether cannabis use and genetic variants at ECS receptor genes (and their interplay), influence the symptoms, the functionality outcome, and the cognitive performance in patients with a FEP.

2 Materials and methods

2.1 Subjects

The study involved 50 patients experiencing their first non-affective psychosis episode, recruited at the Benito Menni CISM Hospital and Sant Rafael Hospital, employing consecutive sampling methods. Each patient was suffering from the first episode of psychosis, with symptom duration not exceeding 18 months. The participant pool consisted of adults (aged 18 years or older) of European descent. This sample partially overlaps with the cohort described in a prior research article by our group (Oscor-Irurozqui et al., 2023), which focused on the analysis of the working memory neural correlates (assessed by functional magnetic resonance), taking into account cannabis use and cannabinoid receptor genes.

Exclusion criteria comprised: (i) age exceeding 65 years, (ii) premorbid Intelligence Quotient (IQ) below 75, (iii) a documented history of brain trauma resulting in loss of consciousness or any neurological condition, and (iv) the existence of a DSM-IV affective

psychotic diagnosis, including mania, hypomania, and major depression with psychotic symptoms.

After 6 months, patients underwent a diagnostic assessment employing the Spanish version of the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID). The diagnoses were: schizophrenia ($n=22$), schizoaffective disorder ($n=3$), delusional disorder ($n=1$), and unspecified psychosis ($n=14$).

2.2 Clinical and cognitive assessments

Symptoms were scored using the patients' clinical evaluation, which included the Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS) (Kay et al., 1987). Based on the PANSS, Positive, Negative and Disorganized Syndrome scores were calculated (Wallwork et al., 2012). We also administered the Global Assessment of Functioning (GAF) scale (Jones et al., 1995), as a single measure of the severity of illness and the overall psychosocial impairment.

The pre-morbid IQ was determined with the Word Accentuation Test (Test de Acentuación de Palabras, TAP) (Gomar et al., 2011), a word reading test requiring pronunciation of Spanish words whose accents have been removed. Patients also performed four subtests of the Wechsler Adult Intelligence Scale III (WAIS-III: vocabulary, similarities, block design, and matrix reasoning) to assess their current verbal and manipulative IQ.

Two well-standardized tests of executive function and memory were also administered. The Behavioural Assessment of the Dysexecutive Syndrome (BADS) (Wilson et al., 1996) gives an overall 'profile' score based on performance on six different subtests. The other consisted of four subtests of the Wechsler Memory Test (WMS-III (Del et al., 1997) logical memory, faces, digit span, letter-number sequencing); scaled scores on these subtests were summed to give an overall score. Diagnostic evaluation and clinical and neuropsychological assessments were carried out by an experienced psychiatrist and psychologist, respectively.

2.3 Cannabis use

The use of recreational drugs was obtained through patients' self-reports during interviews and on medical records. Patients with alcohol/ substance (except cannabis) abuse or dependence within the 6 months before participation were excluded.

Assessment of cannabis use spanned each subject's lifetime. Those classified as cannabis non-users either never used cannabis or had only experimented with it once. On the other hand, cannabis users were identified as individuals with consistent cannabis consumption, with a significant majority (85%) meeting the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) criteria for cannabis abuse or dependence. At the time of clinical and cognitive evaluations, participants had abstained from cannabis for at least 1 week.

2.4 Genetic data

Genomic DNA extraction was performed for all individuals, sourced either from buccal mucosa using cotton swabs and the ATP Genomic DNA Mini Kit Tissue (Teknokroma Analítica, S.A., Sant Cugat del Vallès,

Barcelona, Spain) or from peripheral blood cells using the Realpure SSS Kit for DNA Extraction (Durriz, S.L.U., Valencia, Spain).

Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) were genotyped: rs1049353 located at *CNR1* (Chr: 6q14-q15) and rs2501431 at *CNR2* (Chr: 1p34-p35) genes. These specific SNPs were chosen based on: (i) previous research indicating their potential association with psychosis and/or cannabis use (Costa et al., 2013; Suárez-Pinilla et al., 2015; Hill et al., 2016; Gerra et al., 2018), (ii) Minor Allele Frequency (MAF) in the European population higher than 10%. The genotyping process employed a fluorescence-based allelic discrimination procedure, specifically the Applied Biosystems Taqman 5'-exonuclease assays, conducted under standard conditions. To verify accuracy, 15 samples underwent re-genotyping, with all repeated genotypes matching the initial results. Genotype frequencies demonstrated conformity to Hardy-Weinberg equilibrium. For analysis purposes, genotypes were dichotomized as follows: *CNR1* rs1049353 (CC vs. T-carrier) and *CNR2* rs2501431 (AA vs. G-carrier).

2.5 Statistical analyses

The analyses were conducted using SPSS 23.0 software (IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0, released in 2015, IBM Corporation, Armonk, New York).

Demographics and genotypic data of cannabis users and cannabis non-users were compared through t-student and chi-square tests.

Linear regressions were used to test the effects of cannabis use, genotype, and cannabis $\times$ genotype interaction on clinical and cognitive data. All the analyses were covaried by age and sex to control for the potential confounding effects of these variables. We used for those regressions a 3-step model including previous factors as independent variables, successively added to it (model 1: cannabis; model 2: cannabis + genotype; model 3: cannabis + genotype + interaction cannabis $\times$ genotype). Finally, when the interaction effect was found, we performed the likelihood-ratio test to assess the goodness of fit of the two statistical models, to compare the additive and interaction effects on the dependent variable. We show standardized values of the statistical parameters.

For the between-groups *post-hoc* statistical power calculation, we used G*Power 3.1.9 (Paul et al., 2009). As regards the clinical severity, functionality and cognitive performance comparisons, both between cannabis users and non-users and between genotypes, our sample was powered ($1-\beta=0.80$, $\alpha=0.05$) to detect large effect sizes ($d>0.75$). As an example, it corresponds to 4 points on PANSS positive syndrome scores or 3 points on the WAIS matrix subtest between cannabis users and non-users, or 2 points on PANSS disorganized syndrome scores between T allele carriers and non-carriers of the *CNR1* polymorphism. For the interaction models, the *post-hoc* statistical power was assessed using the 'pwr' R package. It showed that our sample was powered to detect medium effect sizes ($d>0.17$).

3 Results

3.1 Sample description

Twenty-nine (58%) participants were classified as cannabis users. There were no significant differences in demographic characteristics,

TABLE 1 Sociodemographic data and genotype distribution between Cannabis Non-Users (CNU) and Cannabis Users (CU) of the first-episode psychosis patients included in the study.

	CNU	CU	CNU vs CU comparison p-value
N	21	29	–
Age (years) ^a	26.36 (7.55)	25.15 (4.84)	0.523
Sex (male/female)	15/6	23/6	0.089
Premorbid IQ (TAP) ^b	97.23 (11.29)	98.64 (7.17)	0.654
CPZ equivalents (mg/day) ^c	285.91 (144.84)	321.98 (194.25)	0.476
<i>CNR1</i> (rs1049353): CC genotype	15	17	0.352
<i>CNR1</i> (rs1049353): TT/TC genotypes	6	12	
<i>CNR2</i> (rs2501431): AA genotype	6	12	0.352
<i>CNR2</i> (rs2501431): GG/GA genotypes	15	17	

Statistical comparisons were conducted using chi-square and t-test when appropriate. N=sample size. IQ=Intelligence Quotient. TAP=Word Accentuation Test. CPZ=Chlorpromazine. All the quantitative variables include the mean value (standard deviation).

^aAge range 18–39 years.

^bData of TAP were available for 46 patients.

^cAll patients except 2 were on antipsychotic treatment when the tests were performed.

premorbid IQ and medication dosage between users and non-users (Table 1).

The genotypic distribution of the rs1049353 and rs2501431 genotypes is shown in Table 1. Minor allele frequencies were T=0.21 and G=0.4, respectively, in line with those described for the 1,000 Genomes EUR super population. After genotype determination, the two SNPs displayed Hardy-Weinberg equilibrium in both groups ($p>0.05$). No genotype distribution differences were observed between groups.

3.2 Cannabis use and genotypic effects on symptoms severity and functionality

Cannabis users showed a trend towards higher PANSS positive syndrome scores than non-users ($\beta=0.289$; SE=1.482; $p=0.050$; $R^2=0.028$; Table 2). As regards the other clinical parameters, including GAF scale, no significant differences between cannabis use groups emerged (Table 2).

The polymorphic variant at the *CNR1* was associated with the PANSS disorganized syndrome scores ($\beta=0.337$; SE=0.705; $p=0.014$; $R^2=0.221$). Individuals with TT/TC genotypes showed higher mean (sd) scores [9.29(2.08)] than those with the CC genotype [7.00(2.49)] (see Supplementary Tables S1, S2 for full model data).

There was no effect of *CNR2* gene neither on psychotic symptoms or functionality.

3.3 Cannabis use and genotypic effects on cognitive performance

As regards cannabis use, it significantly modulated the performance score on the matrix test of WAIS (Table 3). In particular,

TABLE 2 Clinical outcomes comparison between Cannabis Non-Users (CNU) and Cannabis Users (CU), through linear regression models (covaried by age and sex).

	CNU	CU	CNU vs CU comparison <i>p</i> -value
Positive syndrome – PANSS	13.86 (4.93)	16.75 (5.05)	0.050
Negative syndrome – PANSS	14.24 (8.36)	15.07 (7.41)	0.956
Disorganized syndrome – PANSS	7.24 (2.64)	8.21 (2.50)	0.210
GAF	52.53 (10.95)	47.25 (10.91)	0.088

PANSS, Positive and Negative Syndrome Scale; GAF, Global Assessment of Functioning. The mean values and standard deviation are reported.

TABLE 3 Cognitive performance comparison between Cannabis Non-Users (CNU) and Cannabis Users (CU), through linear regression models (covaried by age and sex).

	CNU	CU	CNU vs CU comparison <i>p</i> -value
Vocabulary test – WAIS	9.77 (2.82)	9.19 (1.96)	0.478
Similarities test – WAIS	9.29 (2.85)	9.27 (2.28)	0.953
Matrix test – WAIS	7.06 (4.04)	9.41 (3.31)	0.041
Block design test – WAIS	7.94 (3.11)	8.82 (2.80)	0.373
Manipulative IQ	82.65 (17.46)	92.74 (16.35)	0.063
Verbal IQ	95.24 (16.94)	93.58 (11.76)	0.788
BADS	14.40 (4.27)	17.08 (3.84)	0.071
WMS	26.19 (9.03)	28.63 (6.34)	0.259

WAIS, Wechsler Adult Intelligence Scale; BADS, Behavioural Assessment of the Dysexecutive Syndrome; WMS, Wechsler Memory Scale. Mean scores and standard deviation of scalar scores are reported.

cannabis users showed better scores in comparison with non-users ($\beta_{standardized} = 0.323$; $SE = 1.144$, $p = 0.041$, $R^2 = 0.040$). No other significant differences between groups emerged on cognitive performance according to the used tests (Table 3).

There was no main effect of cannabinoid receptor genes on cognitive scores, while the interaction models showed an interplay between *CNR2*, and cannabis use for the matrix test ($\beta = 0.728$; $SE = 2.374$; $R^2 = 0.124$; $p = 0.022$). Adding the interaction term in a stepwise manner improved the model's overall fit ($\Delta R^2 = 8.4\%$, $p = 0.019$). Such interaction indicates that the genotype effect was conditional to cannabis use: within cannabis non-users, individuals with the AA genotype showed better manipulative abilities [10.00 (5.89)] than G-allele carriers [6.15 (3.05)]; while, within cannabis users, G-allele carriers performed the test better [10.19 (3.21)] than the AA homozygotes [8.27 (3.26)] (Figure 1).

4 Discussion

Our results show the independent but also the joint effect of cannabis use and cannabinoid receptors' genetic variants on the outcome of first psychosis. In this regard, this study supports the growing interest in understanding the role of both cannabis and genetic modulation effects on first-episode psychosis, to improve the

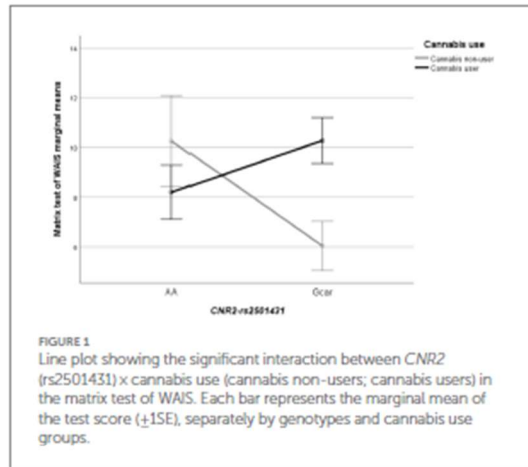
knowledge of the pathophysiological mechanisms that can be targeted with preventive aims.

First, as regards the effect of cannabis use on symptoms, functionality and cognitive performance, our findings add to previous knowledge in a quite convergent manner. On the one hand, we report a tendency of more severe positive symptoms among cannabis users as compared to non-users. This effect was also shown in a large cohort of FEP patients, in which cannabis use was associated with higher PANSS positive scores, both at baseline and in the 12-month follow-up (Seddon et al., 2016). Also, these data are aligned with a systematic review and meta-analytic study, which concluded that continued cannabis use after the onset of psychosis predicts more severe positive symptoms than individuals who discontinue cannabis use or those who are non-users (Schoeler et al., 2016).

On the other hand, our results show a better manipulative performance in FEP patients cannabis users than non-users, joining the controversial already existing results. As previously mentioned, different studies about the cannabis effects on cognitive performance in patients with a recent onset of psychosis report heterogeneous results (Mata et al., 2008; Bugra et al., 2013; Bogaty et al., 2018). But paradoxically, it has been suggested in several studies that patients with SZ or FEP who are cannabis users display better cognitive functioning as compared with non-users (Löberg and Hugdahl, 2009; Schnell et al., 2009; Leeson et al., 2012; Cunha et al., 2013; Ferraro et al., 2013). This has been interpreted as that cannabis users could represent a subgroup of patients neurocognitively less damaged and/or with lower intrinsic vulnerability, in which the early start of cannabis consumption would have triggered the onset of psychosis (Löberg and Hugdahl, 2009; Yücel et al., 2012). In addition, some studies show that patients with schizophrenia who consume cannabis have better social functioning when compared with non-users (Carey et al., 2003; Salyers and Mueser, 2003). However, we acknowledge that other complementary explicative factors could be participating, such as the type of cannabis or the frequency of use, as well as the genetic background of each person.

Second, regarding the analyzed genetic variants, our data indicate a role of the polymorphism rs1049353 at the *CNR1* gene on the disorganized syndrome. These results would be in line with other findings highlighting the effect of *CNR1* variability on clinical profiles, which have described an association of the (AAT)_n *CNR1* microsatellite with disorganized and negative symptoms on hebephrenic SZ in different populations (Ujike et al., 2002; Chavarria-Siles et al., 2008). In line with these results, the polymorphism *CNR1* rs6454674 has been associated with the psychotic symptoms in the PANSS subscales (PANSS total, PANSS positive, PANSS negative and PANSS general psychopathology) and Clinical Global Impression Severity Scale (CGI-S) (Çöpoğlu et al., 2015). The effect of *CNR1* has also been explored from neurobiological approaches. For instance, some neuroimaging-based studies have reported that different allelic variants of this gene impact different neuroanatomical structures, such as the caudate and thalamus or white matter volumes, in patients with SZ and FEP patients (Ho et al., 2011; Suárez-Pinilla et al., 2015). On the other hand, contrary to two previous studies in healthy subjects and patients with SZ (Ho et al., 2011; Colizzi et al., 2015), we did not find an interaction effect of the *CNR1* gene and cannabis use on cognition.

Concerning the *CNR2* gene, we did not observe any main effect on clinical outcomes or cognition. A review of the evidence coming from various animal models based on the *CNR2* gene and SZ-related



symptoms (where schizophrenia-like symptoms were induced via CB2R modulation) concluded that this receptor plays a significant role in the regulation of anxiety- and depressive-related behaviors, cognition and locomotion, all of which are intimately related with the symptoms of SZ (Banaszkiewicz et al., 2020). Regarding cognition, in our line, Ferretjans et al. (2022) did not find an association between CNR2 polymorphisms and cognitive performance in SZ patients. However, in animal models of SZ (through glutamatergic dysfunction induced by the NMDAR antagonist MK 801), the administration of a competitive CB2R antagonist (AM 630) exacerbated memory impairment and CB2R activation by a CB2R selective agonist (JWH 015) reversed cognitive impairment after MK 801 administration (Ishiguro et al., 2010; Khella et al., 2014), suggesting the role of CB2R in the cognitive impairment found among patients with SZ.

On the other hand, despite not finding a CNR2 gene isolated effect on cognition, we described an interaction between the CNR2 polymorphisms and cannabis use on the WAIS matrix test. In fact, our full model indicates a cannabis use effect (first step of the statistical model) but not a gene effect *per se* (second step of the additive statistical model). In this regard, it is noteworthy that within G-carriers, differences existed in the matrix test performance between cannabis users and non-users, while within AA individuals, the test scores were not so diverse. These results could reflect a differential cannabis impact depending on genetics, or, in other words, that genotype modulates cannabis sensibility, which affects cognitive outcome. Similarly, there are several pieces of literature regarding psychosis that show this modulating effect of genetics on cannabis effect, but also on other environmental factors (Henquet et al., 2008; Pelayo-Terán et al., 2012; Tomassi and Tosato, 2017; Zwicker et al., 2018; Wahbeh and Avramopoulos, 2021). For cannabis use, for example, Colizzi et al. (2015) in a case (FEP patients)-control study point to the impact of lifetime cannabis use on the susceptibility to developing a psychotic disorder, as well as the propensity for experiencing psychosis-like symptoms and cognitive alterations, which varies depending on the DRD2 rs1076560 genotype (a gene that encodes the D2 subtype of the dopamine receptor). In another study (Estrada et al., 2011) on individuals with schizophrenia-spectrum disorders and other non-psychotic disorders, the COMT Val158Met

genotype (a gene involved in catabolizing catecholamines such as dopamine) appears to modulate the relationship between cannabis use and the age at onset of psychotic disorders.

In addition, to further understand the impact of our results, it is interesting to add some functional data on the role of CNR2 genetic variants. In this sense, Ishiguro et al. (2010) described the association of two SNPs near the CNR2 locus with SZ in Japanese populations, and, remarkably, by means of gene expression assays, they showed the link between the genetic variants of risk with changes in the functional response of the CB2 receptor to its ligands. Accordingly, while aware of the scarcity of data, we could hypothesize that the interaction effect we detect could be similarly explained by changes in the gene expression derived from the polymorphic variant, which, in turn, would impact the sensitivity to cannabis use effects.

Summarizing, our study supports the cannabis and endocannabinoid system genetics role in the pathophysiology of SZ. However, it is important to interpret our findings in light of certain limitations. Firstly, cannabis use was identified through self-reports and medical records, and it was treated as a dichotomized variable. While previous studies have widely used this classification (Løberg and Hugdahl, 2009; Yücel et al., 2012; Suárez-Pinilla et al., 2015), it is worth noting that gathering more extensive data, including information on variables such as the percentage of THC, age at onset, frequency of use, method of consumption, and others, would be beneficial for future investigations. Also, we are aware that our comprehension of the causal interactions among pertinent factors for psychosis would be enhanced by a longitudinal design (Bioque et al., 2019). However, it is remarkable that the FEP-based sample allows minimizing the impact of illness duration-related factors as well as the cannabis effect after psychosis outcome. Furthermore, we acknowledge that our sample, due to its pilot nature, is underpowered for small-size effects; highlighting the need for new studies to validate both the positive and negative reported results. As regards the sample composition, we also recognize the imbalanced sex-ratio towards more males than females, which is a common issue when samples are recruited based on consecutive hospitalizations. Recent research has demonstrated the sex-dependent effects of cannabis and the ECBS (Spindle et al., 2021; Coleman et al., 2022); nevertheless, due to the composition of our sample, we were unable to conduct sex-specific analyses. Therefore, our analyses should be compared with previous studies based on mixed samples with a predominance of males (Løberg et al., 2012; Suárez-Pinilla et al., 2015). Finally, the absence of a control group limits interpretations regarding the influence of cannabis use and genetic factors on the initial stages of psychotic disorders and also excludes analyses concerning health-disease status and vulnerability.

In conclusion, our study indicates that both endocannabinoid system genetic variants and cannabis use may contribute to a differential outcome in patients with a first episode of psychosis. Despite larger samples would be necessary to better understand the origin of psychosis, current approaches are important to improve our knowledge of causal interactions between relevant factors, which could lead to personalized prevention efforts and therapies for clinicians.

Data availability statement

The dataset generated for this study is available on request to the corresponding authors.

Ethics statement

The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and ethical approval was obtained from the Clinical Research Ethics Committee of Hermanas Hospitalarias. All participants provided written consent subsequent to comprehensive information about the study's procedures and implications.

Author contributions

MO-I: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. MG-R: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – review & editing. CA-P: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – review & editing. AG-P: Investigation, Methodology, Resources, Writing – review & editing. NH: Data curation, Methodology, Writing – review & editing. MC: Investigation, Writing – review & editing. SS: Investigation, Methodology, Writing – review & editing. JG: Investigation, Writing – review & editing. EP-C: Funding acquisition, Investigation, Methodology, Resources, Writing – review & editing. MF-V: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing.

Funding

The authors declare that financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. This study received funding provided by: (i) the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, Instituto de Salud Carlos III through the projects PI14/01151, PI15/01420 and PI18/01535, the PFIS predoctoral contracts to MG-R and NH (FI19/0352 and FI21/00093 respectively)

References

- Baeza, I., Graell, M., Moreno, D., Castro-Fornieles, J., Parellada, M., González-Pinto, A., et al. (2009). Cannabis use in children and adolescents with first episode psychosis: influence on psychopathology and short-term outcome (CAFEPS study). *Schizophr. Res.* 113, 129–137. doi: 10.1016/j.schres.2009.04.005
- Banaszkiewicz, I., Biala, G., and Kruk-Slomka, M. (2020). Contribution of CB2 receptors in schizophrenia-related symptoms in various animal models: Short review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 114, 158–171. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.04.020
- Barrowclough, C., Gregg, L., Lobban, F., Bucci, S., and Emsley, R. (2015). The impact of Cannabis use on clinical outcomes in recent onset psychosis. *Schizophr. Bull.* 41, 382–390. doi: 10.1093/schbul/sbu095
- Bioque, M., Mas, S., Costanzo, M. C., Cabrera, B., Lobo, A., González-Pinto, A., et al. (2019). Gene-environment interaction between an endocannabinoid system genetic polymorphism and cannabis use in first episode of psychosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 29, 786–794. doi: 10.1016/j.euroneuro.2019.04.005
- Bogaty, S. E. R., Lee, R. S. C., Hickie, I. B., and Hermens, D. F. (2018). Meta-analysis of neurocognition in young psychosis patients with current cannabis use. *J. Psychiatr. Res.* 99, 22–32. doi: 10.1016/j.jpsychires.2018.01.010
- Bosson, M. G., and Niesink, R. J. M. (2010). Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog. Neurobiol.* 92, 370–385. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.06.010
- Broyd, S. J., van Hell, H. H., Beale, C., Yücel, M., and Solowij, N. (2016). Acute and chronic effects of cannabinoids on human cognition—a systematic review. *Biol. Psychiatry* 79, 557–567. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.12.002

and the Miguel Servet contract (CP20/00072) to MF-V (co-funded by European Regional Development Fund (ERDF)/European Social Fund "Investing in your future"), (ii) the Comissió per a Universitats i Recerca del DIUE of the Generalitat de Catalunya Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR, 2015SGR1475). The funding sources played no role in the design of the study; the collection, analysis, or interpretation of data; or the decision to submit this manuscript for publication.

Acknowledgments

The authors wish to thank all the participants.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2024.1414098/full#supplementary-material>

- Bugra, H., Studerus, E., Rapp, C., Tamagni, C., Aston, J., Borgwardt, S., et al. (2013). Cannabis use and cognitive functions in at-risk mental state and first episode psychosis. *Psychopharmacology* 230, 299–308. doi: 10.1007/s00213-013-3157-y
- Carey, K. B., Carey, M. P., and Simons, J. S. (2003). Correlates of substance use disorder among psychiatric outpatients: focus on cognition, social role functioning, and psychiatric status. *J. Nerv. Ment. Dis.* 191, 300–308. doi: 10.1097/01.NMD.0000066152.87832.A9
- Chavarría-Siles, I., Contreras-Rojas, J., Hare, E., Walis-Bass, C., Quezada, P., Dassori, A., et al. (2008). Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet.* 147B, 279–284. doi: 10.1002/ajmg.b.30592
- Cohen, K., and Weinstein, A. (2018). The effects of cannabinoids on executive functions: evidence from cannabis and synthetic cannabinoids—a systematic review. *Brain Sci.* 8, 40. doi: 10.3390/brainsci8030040
- Coleman, J. R., Madularu, D., Ortiz, R. J., Athanassiou, M., Knudsen, A., Alkisar, I., et al. (2022). Changes in brain structure and function following chronic exposure to inhaled vaporized cannabis during adolescence in female and male mice: a multimodal MRI study. *Addict. Biol.* 27:e13169. doi: 10.1111/adb.13169
- Colizzi, M., Fazio, L., Ferranti, L., Porcelli, A., Masellis, R., Marvulli, D., et al. (2015). Functional genetic variation of the cannabinoid receptor 1 and cannabis use interact on prefrontal connectivity and related working memory behavior. *Neuropsychopharmacology* 40, 640–649. doi: 10.1038/npp.2014.213
- Colizzi, M., Iyegbe, C., Powell, J., Ursini, G., Porcelli, A., Bonvino, A., et al. (2015). Interaction between functional genetic variation of DRD2 and

- cannabis use on risk of psychosis. *Schizophr. Bull.* 41, 1171–1182. doi: 10.1093/schbul/sbv032
- Çopoglu, U. S., Işci, M., Bozgeyik, E., Kokacya, M. H., Işci, Y. Z., Özden, A., et al. (2015). Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene polymorphisms in schizophrenia patients: Rs6454674 polymorphism is associated with disease severity. *Klin Psikofarmakol. Bul.* 25, 341–347. doi: 10.5455/bcp.20150502072915
- Costa, M., Squassina, A., Congiu, D., Chillotti, C., Niola, P., Galderisi, S., et al. (2013). Investigation of endocannabinoid system genes suggests association between peroxisome proliferator activator receptor- α gene (PPARA) and schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 23, 749–759. doi: 10.1016/j.euroneuro.2012.07.007
- Cunha, P. J., Rosa, P. G. P., Ayres, A. M., Duran, F. I. S., Santos, L. C., Scazufca, M., et al. (2013). Cannabis use, cognition and brain structure in first-episode psychosis. *Schizophr. Res.* 147, 209–215. doi: 10.1016/j.schres.2013.04.009
- Del, S. T., González-Montalvo, J.-I., Martínez-Espinosa, S., Delgado-Villalobos, C., and Bermejo, F. (1997). Estimation of premorbid intelligence in Spanish people with the word accentuation test and its application to the diagnosis of dementia. *Brain Cogn.* 33, 343–356. doi: 10.1006/brcg.1997.0877
- Di Forti, M., Sallis, H., Allegrì, E., Trotta, A., Ferraro, L., Stilo, S. A., et al. (2014). Daily use, especially of high-potency cannabis, drives the earlier onset of psychosis in cannabis users. *Schizophr. Bull.* 40, 1509–1517. doi: 10.1093/schbul/sbt181
- EO, B. J. S., Kim, J. Y., Park, B. L., Kim, J. H., Kim, B., Park, C. S., et al. (2014). Genetic association analysis of CNR1 and CNR2 polymorphisms with schizophrenia in a Korean population. *Psychiatr. Genet.* 24, 225–229. doi: 10.1097/YPG.0000000000000047
- Estrada, G., Fatjó-Vilas, M., Muñoz, M. J., Pulido, G., Miñano, M. J., Toledo, E., et al. (2011). Cannabis use and age at onset of psychosis: further evidence of interaction with COMT Val158Met polymorphism. *Acta Psychiatr. Scand.* 123, 485–492. doi: 10.1111/j.1600-0447.2010.01665.x
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., and Lang, A. G. (2009). Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav. Res. Methods.* 41, 1149–1160. doi: 10.3758/BRM.41.4.1149
- Ferraro, L., Russo, M., O'Connor, J., Wiffen, B. D. R., Falcone, M. A., Sideli, L., et al. (2013). Cannabis users have higher premorbid IQ than other patients with first onset psychosis. *Schizophr. Res.* 150, 129–135. doi: 10.1016/j.schres.2013.07.046
- Ferreira, R., de Souza, R. P., Panizzutti, B., Ferrari, P., Mantovani, L., de Campos-Carli, S. M., et al. (2022). Cannabinoid receptor gene polymorphisms and cognitive performance in patients with schizophrenia and controls. *Braz. J. Psychiatry* 44, 26–34. doi: 10.1590/1516-4446-2020-1650
- Garani, R., Watts, J. J., and Mizrahi, R. (2021). Endocannabinoid system in psychotic and mood disorders, a review of human studies. *Progress Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 106:110096. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110096
- Gerra, M. C., Jayanthi, S., Manfredini, M., Walther, D., Schroeder, J., Phillips, K. A., et al. (2018). Gene variants and educational attainment in cannabis use: mediating role of DNA methylation. *Transl. Psychiatry* 8, 1–11. doi: 10.1038/s41398-017-0087-1
- Gomar, J. J., Ortiz-Gil, J., McKenna, P. J., Salvador, R., Sans-Sansa, B., Sarro, S., et al. (2011). Validation of the word accentuation test (TAP) as a means of estimating premorbid IQ in Spanish speakers. *Schizophr. Res.* 128, 175–176. doi: 10.1016/j.schres.2010.11.016
- Grech, A., Van Os, J., Jones, P. B., Lewis, S. W., and Murray, R. M. (2005). Cannabis use and outcome of recent onset psychosis. *Eur. Psychiatry* 20, 349–353. doi: 10.1016/j.eurpsy.2004.09.013
- Henquet, C., Di Forti, M., Morrison, P., Kuepper, R., and Murray, R. M. (2008). Gene-environment interplay between cannabis and psychosis. *Schizophr. Bull.* 34, 1111–1121. doi: 10.1093/schbul/sbn108
- Hill, S. Y., Sharma, V., and Jones, B. L. (2016). Lifetime use of cannabis from longitudinal assessments, cannabinoid receptor (CNR1) variation, and reduced volume of the right anterior cingulate. *Psychiatry Res.* 255, 24–34. doi: 10.1016/j.psychres.2016.05.009
- Ho, B. C., Wassink, T. H., Ziebell, S., and Andreasen, N. C. (2011). Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 128, 66–75. doi: 10.1016/j.schres.2011.02.021
- Ibarra-Lecue, I., Pilar-Cuellar, F., Muguruza, C., Florensa-Zanuy, E., Díaz, A., Uriguen, L., et al. (2018). The endocannabinoid system in mental disorders: evidence from human brain studies. *Biochem. Pharmacol.* 157, 97–107. doi: 10.1016/j.bcp.2018.07.009
- Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Ishikawa, M., Koga, M., Imai, K., Suzuki, Y., et al. (2010). Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 67, 974–982. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.09.024
- Jones, S. H., Thornicroft, G., Coffey, M., and Dunn, G. (1995). A brief mental health outcome scale. Reliability and validity of the global assessment of functioning (GAF). *Br. J. Psychiatry* 166, 654–659. doi: 10.1192/bjp.166.5.654
- Kay, S. R., Fiszbein, A., and Opler, L. A. (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 13, 261–276. doi: 10.1093/schbul/13.2.261
- Khella, R., Short, J. L., and Malone, D. T. (2014). CB2 receptor agonism reverses MK-801-induced disruptions of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology* 231, 3071–3087. doi: 10.1007/s00213-014-3481-x
- Leeson, V. C., Harrison, L., Ron, M. A., Barnes, T. R. E., and Joyce, E. M. (2012). The effect of cannabis use and cognitive reserve on age at onset and psychosis outcomes in first-episode schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 38, 873–880. doi: 10.1093/schbul/sbq153
- Legge, S. E., Jones, H. J., Kendall, K. M., Pardiñas, A. E., Menzies, G., Bracher-Smith, M., et al. (2019). Association of Genetic Liability to psychotic experiences with Neuropsychotic disorders and traits. *JAMA Psychiatry* 76, 1256–1265. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2019.2508
- Li, Y., and Kim, J. (2017). Distinct roles of neuronal and microglial CB2 cannabinoid receptors in the mouse hippocampus. *Neuroscience* 363, 11–25. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.08.053
- Løberg, E. M., and Hugdahl, K. (2009). Cannabis use and cognition in schizophrenia. *Front. Hum. Neurosci.* 3:53. doi: 10.3389/fnhum.2009.00353
- Løberg, E. M., Nygård, M., Berle, J. Ø., Johnsen, E., Krokken, R. A., Jørgensen, H. A., et al. (2012). An fMRI study of neuronal activation in schizophrenia patients with and without previous Cannabis use. *Front. Psychiatry [Internet]*. 3:94. doi: 10.3389/fpsyg.2012.00094
- Marconi, A., Di, F. M., Lewis, C. M., Murray, R. M., and Vassos, E. (2016). Meta-analysis of the association between the level of Cannabis use and risk of psychosis. *Schizophr. Bull.* 42, 1262–1269. doi: 10.1093/schbul/sbw003
- Mata, I., Rodríguez-Sánchez, J. M., Pelayo-Terán, J. M., Pérez-Iglesias, R., González-Blanch, C., Ramírez-Bonilla, M., et al. (2008). Cannabis abuse is associated with decision-making impairment among first-episode patients with schizophrenia-spectrum psychosis. *Psychol. Med.* 38, 1257–1266. doi: 10.1017/S0033291707002218
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., and Welham, J. (2008). Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol. Rev.* 30, 67–76. doi: 10.1093/epirev/mxn001
- Murray, C. J. L., and Lopez, A. D. Harvard School of Public Health, World Health Organization, World Bank (1996). The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020. Geneva: World Health Organization.
- Núñez, C., Ochoa, S., Huerta-Ramos, E., Baños, I., Barajas, A., Dolz, M., et al. (2016). Cannabis use and cognitive function in first episode psychosis: differential effect of heavy use. *Psychopharmacology* 233, 809–821. doi: 10.1007/s00213-015-4160-2
- Oscor-Iruozqui, M., Almodovar-Payá, C., Guardiola-Ripoll, M., Guerrero-Pedraza, A., Hostalet, N., Salvador, R., et al. (2023). Cannabis use and endocannabinoid receptor genes: a pilot study on their interaction on brain activity in first-episode psychosis. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 1–14. doi: 10.3390/ijms24087501
- Pelayo-Terán, J. M., Suárez-Piñilla, P., Chadi, N., and Crespo-Facorro, B. (2012). Gene-environment interactions underlying the effect of cannabis in first episode psychosis. *Curr. Pharm. Des.* 18, 5024–5035. doi: 10.2174/138161212802884609
- Rojnic Kuzman, M., Bosnjak Kuharic, D., Ganoci, L., Makaric, P., Kekin, I., Rossini Gajsek, L., et al. (2019). Association of CNR1 genotypes with changes in neurocognitive performance after eighteen-month treatment in patients with first-episode psychosis. *Eur. Psychiatry* 61, 88–96. doi: 10.1016/j.eurpsy.2019.07.004
- Ruiz-Contreras, A. E., Carrillo-Sánchez, K., Gómez-López, N., Vadillo-Ortega, F., Hernández-Morales, S., Carnevale-Cantoni, A., et al. (2013). Working memory performance in young adults is associated to the AATn polymorphism of the CNR1 gene. *Behav. Brain Res.* 236, 62–66. doi: 10.1016/j.bbr.2012.08.031
- Ruiz-Contreras, A. E., Carrillo-Sánchez, K., Ortega-Mora, I., Barrera-Tlapa, M. A., Román-López, T. V., Rosas-Escobar, C. B., et al. (2014). Performance in working memory and attentional control is associated with the rs2180619 SNP in the CNR1 gene. *Genes Brain Behav.* 13, 173–178. doi: 10.1111/gbb.12097
- Ruiz-Contreras, A. E., Delgado-Herrera, M., García-Vaca, P. A., Almeida-Rosas, G. A., Soria-Rodríguez, G., Soriano-Bautista, A., et al. (2011). Involvement of the AATn polymorphism of the CNR1 gene in the efficiency of procedural learning in humans. *Neurosci. Lett.* 494, 202–206. doi: 10.1016/j.neulet.2011.03.013
- Ruiz-Contreras, A. E., Román-López, T. V., Caballero-Sánchez, U., Rosas-Escobar, C. B., Ortega-Mora, E. I., Barrera-Tlapa, M. A., et al. (2017). Because difficulty is not the same for everyone: the impact of complexity in working memory is associated with cannabinoid 1 receptor genetic variation in young adults. *Memory* 25, 335–343. doi: 10.1080/09658211.2016.1172642
- Salyers, M. R., and Mueser, K. T. (2003). Social functioning, psychopathology, and medication side effects in relation to substance use and abuse in schizophrenia. *Dual Diagnosis* 48, 125–147. doi: 10.1016/s0920-9964(00)00063-3
- Schmöle, A. C., Lundt, R., Toporowski, G., Hansen, J. N., Beins, E., Halle, A., et al. (2018). Cannabinoid receptor 2-deficiency ameliorates disease symptoms in a mouse model with Alzheimer's disease-like pathology. *J. Alzheimers Dis.* 64, 379–392. doi: 10.3233/JAD-180230
- Schnell, T., Koethe, D., Daumann, J., and Gouzoulis-Mayfrank, E. (2009). The role of cannabis in cognitive functioning of patients with schizophrenia. *Psychopharmacology* 205, 45–52. doi: 10.1007/s00213-009-1512-9

- Schoeler, T., Kambeitz, J., Behlke, I., Murray, R., and Bhattacharyya, S. (2016). The effects of cannabis on memory function in users with and without a psychotic disorder: findings from a combined meta-analysis. *Psychol. Med.* 46, 177–188. doi: 10.1017/S0033291715001646
- Schoeler, T., Monk, A., Sami, M. B., Klammer, E., Foglia, E., Brown, R., et al. (2016). Continued versus discontinued cannabis use in patients with psychosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry* 3, 215–225. doi: 10.1016/S2215-0366(15)00363-6
- Seddon, J. L., Birchwood, M., Copello, A., Everard, L., Jones, P. B., Fowler, D., et al. (2016). Cannabis use is associated with increased psychotic symptoms and poorer psychosocial functioning in first-episode psychosis: a report from the UK national EDEN study. *Schizophr. Bull.* 42, 619–625. doi: 10.1093/schbul/sbv154
- Spindle, T. R., Kuwabara, H., Eversole, A., Nandi, A., Vandrey, R., Antoine, D. G., et al. (2021). Brain imaging of cannabinoid type 1 (CB1) receptors in women with cannabis use disorder and male and female healthy controls. *Addict. Biol.* 26:e13061. doi: 10.1111/adb.13061
- Suárez-Pinilla, P., Roiz-Santiañez, R., Ortiz-García de la Foz, V., Guest, P. C., Ayesa-Arriola, R., Córdova-Palomera, A., et al. (2015). Brain structural and clinical changes after first episode psychosis: focus on cannabinoid receptor 1 polymorphisms. *Psychiatry Res.* 233, 112–119. doi: 10.1016/j.psychres.2015.05.005
- Taurisano, P., Antonucci, L. A., Fazio, L., Rampino, A., Romano, R., Porcelli, A., et al. (2016). Prefrontal activity during working memory is modulated by the interaction of variation in CB1 and COX2 coding genes and correlates with frequency of cannabis use. *Cortex* 81, 231–238. doi: 10.1016/j.cortex.2016.05.010
- Taurisano, P., Pergola, G., Monda, A., Antonucci, L. A., and Carlo, P. Di, Fiarulli, F., et al. (2021). The interaction between cannabis use and a CB1-related polygenic co-expression index modulates dorsolateral prefrontal activity during working memory processing. *Brain Imaging Behav.* 15, 288–299. doi: 10.1007/s11682-020-00256-z
- Tomassi, S., and Tosato, S. (2017). Epigenetics and gene expression profile in first-episode psychosis: the role of childhood trauma. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 83, 226–237. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.10.018
- Tong, D., He, S., Wang, L., Jin, L., Si, P., and Cheng, X. (2013). Association of single-nucleotide polymorphisms in the cannabinoid receptor 2 gene with schizophrenia in the Han Chinese population. *J. Mol. Neurosci.* 51, 454–460. doi: 10.1007/s12031-013-0062-0
- Ujike, H., Takaki, M., Nakata, K., Tanaka, Y., Takeda, T., Kodama, M., et al. (2002). CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 7, 515–518. doi: 10.1038/sj.mp.4001029
- Van Winkel, R., Kahn, R. S., Linszen, D. H., Van Os, J., Wiersma, D., Bruggeman, R., et al. (2011). Family-based analysis of genetic variation underlying psychosis-inducing effects of cannabis: sibling analysis and proband follow-up. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 148–157. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.152
- Wahbeh, M. H., and Avramopoulos, D. (2021). Gene-environment interactions in schizophrenia: a literature review. *Genes* 12:1850. doi: 10.3390/genes12121850
- Wallwork, R. S., Fortgang, R., Hashimoto, R., Weinberger, D. R., and Dickinson, D. (2012). Searching for a consensus five-factor model of the positive and negative syndrome scale for schizophrenia. *Schizophr. Res.* 137, 246–250. doi: 10.1016/j.schres.2012.01.031
- Wilson, B. A., Burgess, E. H., and Evans, J. J. (1996). Behavioural assessment of the Dysexecutive syndrome (BADS). Reading, UK: Thames Val Test Co.
- Wolf, S., Tauber, S., and Ullrich, O. (2008). CNS Immune Surveillance and Neuroinflammation: Endocannabinoids Keep Control. *Curr. Pharm. Des.* 14, 2266–2278. doi: 10.2174/138161208785740090
- Wu, J., Bie, B., Yang, H., Xu, J. J., Brown, D. L., and Naguib, M. (2013). Activation of the CB2 receptor system reverses amyloid-induced memory deficiency. *Neurobiol. Aging* 34, 791–804. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.06.011
- Yücel, M., Bora, E., Lubman, D. I., Solowij, N., Brewer, W. J., Cotton, S. M., et al. (2012). The impact of cannabis use on cognitive functioning in patients with schizophrenia: a meta-analysis of existing findings and new data in a first-episode sample. *Schizophr. Bull.* 38, 316–330. doi: 10.1093/schbul/sbq079
- Zwicker, A., Denovan-Wright, E. M., and Uher, R. (2018). Gene-environment interplay in the etiology of psychosis. *Psychol. Med.* 48, 1925–1936. doi: 10.1017/S003329171700383X

ARTÍCULO II

Cannabis Use and Endocannabinoid Receptor Genes: A Pilot Study on Their Interaction on Brain Activity in First-Episode Psychosis

Maitane Oscoz-Irurozqui, Maria Guardiola-Ripoll, Carmen Almodóvar-Payá, Amalia Guerrero-Pedraza, Noemí Hostalet, María Isabel Carrión, Salvador Sarró, JJ Gomar, Edith Pomarol-Clotet, Mar Fatjó-Vilas

International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24, 1-14. DOI: 10.3390/ijms24087501. PMID: 37108689

Título: Consumo de cannabis y genes de receptores endocannabinoides: estudio piloto de su interacción sobre la actividad cerebral en primeros episodios de psicosis.

Introducción. Se ha demostrado que tanto el consumo de cannabis como la carga genética individual son factores de riesgo para psicosis. Sin embargo, el efecto de la interacción entre el cannabis y la variabilidad de los genes de los receptores cannabinoides subyacente a las bases neurobiológicas de la psicosis ha sido escasamente investigado.

Métodos. A través de un diseño de casos que incluye pacientes con un primer episodio de psicosis (PEP) (n=40), clasificados como consumidores de cannabis (50%) y no consumidores, nuestro objetivo fue evaluar la interacción entre el consumo de cannabis y las variantes genéticas comunes de los genes de los receptores endocannabinoides sobre la actividad cerebral. Se analizó el genotipo de dos polimorfismos de nucleótido único: uno en el gen del receptor cannabinoide tipo 1 (*CNR1* rs1049353) y otro en el gen del receptor cannabinoide tipo 2 (*CNR2* rs2501431). Los datos de imágenes por resonancia magnética funcional (RMf) se obtuvieron mientras se realizaba una tarea n-back de memoria de trabajo (MT). Las evaluaciones de las imágenes se realizaron con el módulo FEAT del software FSL. Se llevaron a cabo los siguientes análisis de neuroimagen: comparación de la actividad cerebral total entre consumidores de cannabis y no consumidores (prueba t) y estudio de la interacción grupo de consumo de cannabis-gen sobre la actividad cerebral total (regresión lineal). También comparamos el rendimiento de la tarea n-back entre consumidores de cannabis y no consumidores (prueba t).

Resultados. Los modelos de interacción entre genes y cannabis evidenciaron un efecto combinado de los genotipos de los genes *CNR1* y *CNR2* y el consumo de cannabis sobre la actividad cerebral en diferentes áreas cerebrales, como el núcleo caudado, la corteza cingulada y la corteza orbitofrontal.

Conclusiones. Nuestros hallazgos sugieren que la variabilidad genética de los receptores endocannabinoides modula el efecto del consumo de cannabis sobre la actividad cerebral en pacientes con un PEP, posiblemente a través del papel en áreas cerebrales relevantes para el circuito de recompensa.



Article

Cannabis Use and Endocannabinoid Receptor Genes: A Pilot Study on Their Interaction on Brain Activity in First-Episode Psychosis

Maitane Osoz-Iruozqui ^{1,2,†}, Carmen Almodovar-Payá ^{1,3,†}, Maria Guardiola-Ripoll ^{1,3,†},
Amalia Guerrero-Pedraza ^{1,4,†}, Noemí Hostalet ¹, Raymond Salvador ^{1,3}, Maria Isabel ⁵, Teresa Maristany ⁶,
Edith Pomarol-Clotet ^{1,3,*} and Mar Fatjó-Vilas ^{1,3,7,*}

- ¹ FIDMAG Germanes Hospitalàries Research Foundation, Av Jordà 8, 08035 Barcelona, Spain; moscoz@alumni.unav.es (M.O.-I.); calmodovar@fidmag.org (C.A.-P.); mguardiola@fidmag.org (M.G.-R.); aguerrero.hbmenni@hospitalarias.es (A.G.-P.); nhostalet@fidmag.org (N.H.); rsalvador@fidmag.org (R.S.)
² Centro de Salud Mental Errenteria-Osakidetza, Av Galtzaraborda 69-75, 20100 Errenteria, Guipúzcoa, Spain
³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Instituto de Salud Carlos III, Av Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, Planta 0, 28029 Madrid, Spain
⁴ Hospital Benito Menni C.A.S.M., C/Doctor Antoni Pujadas 38, 08830 Sant Boi de Llobregat, Barcelona, Spain
⁵ Hospital Sant Rafael, Passeig de la Vall d'Hebron, 107, 08035 Barcelona, Spain; micarrion.hsrafael@hospitalarias.es
⁶ Diagnostic Imaging Department, Hospital Sant Joan de Déu Research Foundation, Passeig de Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain; tmaristany@sjdhospitalbarcelona.org
⁷ Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Avinguda Diagonal, 643, 08028 Barcelona, Spain
* Correspondence: epomarol-clotet@fidmag.org (E.P.-C.); mfatjo-vilas@fidmag.org (M.F.-V.)
† These authors contributed equally to this work.



Citation: Osoz-Iruozqui, M.; Almodovar-Payá, C.; Guardiola-Ripoll, M.; Guerrero-Pedraza, A.; Hostalet, N.; Salvador, R.; Isabel, M.; Maristany, T.; Pomarol-Clotet, E.; Fatjó-Vilas, M. Cannabis Use and Endocannabinoid Receptor Genes: A Pilot Study on Their Interaction on Brain Activity in First-Episode Psychosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 7501. <https://doi.org/10.3390/ijms24087501>

Academic Editor: Chulso Moon

Received: 10 March 2023

Revised: 4 April 2023

Accepted: 6 April 2023

Published: 19 April 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The role of both cannabis use and genetic background has been shown in the risk for psychosis. However, the effect of the interplay between cannabis and variability at the endocannabinoid receptor genes on the neurobiological underpinnings of psychosis remains inconclusive. Through a case-only design, including patients with a first-episode of psychosis ($n = 40$) classified as cannabis users (50%) and non-users (50%), we aimed to evaluate the interaction between cannabis use and common genetic variants at the endocannabinoid receptor genes on brain activity. Genetic variability was assessed by genotyping two Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) at the cannabinoid receptor type 1 gene (*CNR1*; rs1049353) and cannabinoid receptor type 2 gene (*CNR2*; rs2501431). Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) data were obtained while performing the n-back task. Gene $\times$ cannabis interaction models evidenced a combined effect of *CNR1* and *CNR2* genotypes and cannabis use on brain activity in different brain areas, such as the caudate nucleus, the cingulate cortex and the orbitofrontal cortex. These findings suggest a joint role of cannabis use and cannabinoid receptor genetic background on brain function in first-episode psychosis, possibly through the impact on brain areas relevant to the reward circuit.

Keywords: first-episode of psychosis; cannabis use; cannabinoid receptor genes; fMRI working memory

1. Introduction

A complex interplay between genetic and environmental factors is involved in the aetiology of psychosis. Both quantitative and molecular studies have well-established the heritability of psychotic disorders [1–3]; however, genome-wide association data have shown that the common genetic variability explains only a part of the variance in the vulnerability [4,5]. This reflects that environmental exposures may account for a proportion of the liability. Indeed, epidemiological studies have identified many environmental risk factors associated with psychosis, such as obstetric and perinatal complications, early

infections, substance abuse, urbanicity and migration or psychosocial stress [6–8]. Among them, cannabis use has captured much attention since several population-based studies consistently reported that cannabis consumption is associated with an increased risk for psychotic experiences [9] and psychotic disorders [10,11]. Additionally, studies based on clinical samples have described a higher prevalence of cannabis use in subjects with a first-episode of psychosis as compared to the general population [12–14] and that the age at which cannabis use begins appears to correlate with the age at onset of psychosis [15,16]. Despite this knowledge, the nature of the relationship between genetic liability, cannabis use and psychosis development is not fully understood.

The association between cannabis use and psychosis is mediated by the effect of exogenous cannabinoids on the endocannabinoid system (ECBS), which is intimately related to the dopamine system [16]. Concretely, the Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), the main psychoactive component of cannabis, is a partial agonist of the cannabinoid G protein-coupled receptors (cannabinoid receptor type 1 (CB1R) and type 2 (CB2R)) and binds to them with strong affinity.

CB1R is the most abundant receptor in the mammalian brain; and it is expressed in the presynaptic terminals in the basal ganglia, the cerebellum, the hippocampus, the cingulate, the amygdala, and the prefrontal cortex [17]. It is localised on the gamma-aminobutyric acid (GABA-ergic) and glutamatergic neurons, acting as a retrograde feedback system to modulate dopamine transmissions through inputs to dopaminergic neurons in the ventral midbrain that express these receptors [18,19].

CB2R was first detected in the periphery but later in the brain [20], particularly in the amygdala, hippocampus, cerebellum, nucleus accumbens, caudate/putamen and cortex [21]. Also, recent advances indicate that CB2R is expressed in both the brain's neurons and glial cells [22]. Given that CB2R appears to be mainly postsynaptic, it is thought that the activation of CB2R may play the opposite effect of CB1R [23].

The role of CB1R and CB2R signalling pathways in the modulation of various dopamine-associated behaviours [18,19,24] and their inducibility by external factors have emphasised their critical role in multiple cellular and behavioural functions, involving both cognitive and psychiatric conditions, such as substance abuse [23].

The cortico-basal ganglia-thalamic areas that densely express cannabinoid receptors are part of a broader network subserving working memory functions [25]. Alterations in this cognitive dimension are consistently reported in patients with psychotic disorders [26,27]. In this line, a recent meta-analysis found that working memory is one of the most prominently affected cognitive domains by acute administration of partial CB1R agonists [28]. Nevertheless, current data offer mixed results with regard to the direction of the effect of cannabis on working memory performance. Some studies describe a worse cognitive performance associated with cannabis use both in healthy subjects [29,30] and individuals with a psychotic disorder [31,32]; others show better performance in patients using cannabis [33,34], and there are also studies showing no effect [35,36].

From functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI), most studies based on healthy cannabis users (CU) report changes in the activation patterns associated with the performance of working memory and attention tasks [36–39]. However, the conclusions of available studies are markedly inconsistent and hardly comparable because of various confounders. Regarding the fMRI studies exploring the effect of cannabis use on cognitive functioning in subjects with psychosis, the evidence is scarce and based only on three previous studies with limited sample sizes of patients with chronic schizophrenia. These previous fMRI studies report more preserved cognitive functioning in CU than cannabis non-users (CNU) [40–42]. This same pattern was observed in studies evaluating neuroanatomical or neurocognitive differences between patients with psychotic disorders exposed to cannabis and patients not exposed to it [33,34,43]. However, to our knowledge, no fMRI study has ever been focused on exploring the cannabis use effect in patients with a first-episode of psychosis.

The fact that only a small proportion of CU develop psychosis, and the observed heterogeneity of cannabis effects, suggest that genetic variability on ECBS-related genes could be involved in the differential sensitivity to cannabis use effects between individuals [44,45].

In this sense, some studies have associated the gene encoding for the CB1R (*CNR1* gene) with the risk for schizophrenia [46,47], with the performance in various cognitive dimensions, such as executive function, attention or memory [48,49], and with changes in brain volumes [48,50]. However, other inconclusive results [51] stress the need for further research on the role of endocannabinoid genetics in schizophrenia and its associated phenotypes. Regarding brain imaging phenotypes, some studies report that cannabis use, in the context of specific *CNR1* genotypes, may contribute to brain volume differences, both in patients with schizophrenia and healthy volunteers [48,50,52,53]. Concerning fMRI approaches, the existing studies are only based on healthy individuals and report the interplay between *CNR1* and cannabis use on prefrontal activity, connectivity, and behavioural performance during the n-back task [54,55]. In addition, a polygenic approach, based on the co-expression network of *CNR1*, highlighted the interaction between cannabis use and the *CNR1*-network polygenic score on the dorsolateral prefrontal activity during working memory processing in healthy subjects [56]. Such results suggest that cannabis use affects the physiological relationship between genetically induced expression of *CNR1* and prefrontal working memory processing. However, as far as we know, no previous fMRI studies have analysed the interplay of the endocannabinoid genetic variants and cannabis use in patients with psychosis. Similarly, research is scarce on the role of polymorphic variability at the gene encoding for the CB2R (*CNR2* gene) in the risk for psychosis [57] and, to our knowledge, no studies have assessed the relation between *CNR2* and cannabis use through fMRI, neither in healthy subjects nor in patients with schizophrenia.

Aims of the Study

This background highlights the need for further research on the effect of cannabis use on the emergence of the first-episode of psychosis. In particular, as genetic factors have been shown to influence cannabis association with psychosis outcomes, we aimed to analyse the role of common genetic variability at cannabinoid receptor genes in mediating the effect of cannabis use on brain activity. Therefore, we have conducted a Gene $\times$ Environment study to assess the role of two common genetic variants at *CNR1* (rs1049353) and *CNR2* (rs2501431) genes and cannabis use on working memory brain function in a case-only sample of patients with a first-episode of psychosis. All participants underwent an fMRI protocol, including a working memory task (n-back), which allowed the brain activity comparison between CU and CNU conditional to the *CNR1* and *CNR2* genotypes.

2. Results

2.1. Sample Description

Out of 40 participants in the study, 20 (50%) were classified as CU and the rest as CNU. There were no significant differences in the demographic, clinical, and mean dose of antipsychotic treatment data between the two groups (Table 1).

The genotypic distribution of the rs1049353 and rs2501431 polymorphisms is shown in Table 2. Minor allele frequencies were T = 0.2 and G = 0.38, respectively.

2.2. Neuroimaging Association Analyses

There were no differences on any fMRI contrast between CU and CNU.

*2.2.1. Cannabis Use $\times$ *CNR1* Variability Interaction Effect on Brain Activity*

The gene $\times$ environment interaction analyses in the 2-back vs. 1-back contrast revealed a significant effect of *CNR1* $\times$ cannabis encompassing one cluster located within the right medial and superior temporal pole and bilaterally within the orbitofrontal cortex, anterior cingulate cortex and caudate (2620 voxels, peak activation at MNI (Montreal Neurological Institute coordinates) [48, 18, -28], $z = 4.4$, and $p = 2.98 \times 10^{-7}$) (Figure 1A).

Table 1. Sociodemographic and neuropsychological data of the first-episode of psychosis participants included in the study. They were divided into cannabis non-users (CNU) and cannabis users (CU) groups. N = sample size. Premorbid IQ = Premorbid Intelligence Quotient. TAP = Word Accentuation Test. PANSS = Positive and Negative Symptoms Scale. GAF = Global Assessment of Functioning. CPZ = Chlorpromazine. The mean value (standard deviation) is given for the quantitative variables. For statistical comparisons, the *t*-student test was used for the quantitative variables and the chi-squared test for the sex variable.

	Cannabis Non-Users (CNU)	Cannabis Users (CU)	CNU vs. CU Comparison <i>p</i> -Value
N	20	20	-
Age (years)	26.19 (7.72)	25.94 (5.31)	0.87
Sex (male/female)	15/5	16/4	0.71
Premorbid IQ (TAP ^a)	97.24 (11.29)	98.78 (7.95)	0.64
PANSS scale			
PANSS positive	15.90 (5.86)	18.45 (4.80)	0.14
PANSS negative	16.20 (8.46)	16.95 (8.34)	0.78
PANSS general	30.25 (7.60)	33.85 (8.92)	0.18
GAF ^b	52.11 (11.11)	48.74 (10.94)	0.36
CPZ ^c equivalents (mg/day)	292.65 (145.16)	301.20 (181.88)	0.64

^a Data of TAP were available for 35 patients. ^b Data of GAF were available for 37 patients. ^c All patients except 2 were on antipsychotic treatment when the functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) protocol was performed.

Table 2. The genotypic distribution of cannabinoid receptor type 1 and 2 genes (*CNR1* and *CNR2*) between cannabis non-users (CNU) and cannabis users (CU). The genotypes are presented as a two-level variable according to the dominant model used for the analyses. No genotype distribution differences were observed between CNU and CU groups.

Gene (Polymorphism)	Genotypes	Cannabis Non-Users (CNU)	Cannabis Users (CU)	CNU vs. CU Comparison χ^2 Test, <i>p</i> -Value
<i>CNR1</i> (rs1049353)	CC	14 (70%)	12 (60%)	0.440, 0.741
	Tcar	6 (30%)	8 (40%)	
<i>CNR2</i> (rs2501431)	AA	6 (30%)	9 (45%)	0.960, 0.257
	Gcar	14 (70%)	11 (55%)	

To better understand the directionality of the results, we extracted the corresponding mean activity scores within the cluster. It must be acknowledged that the obtained scores represent the mean activity change occurred between the two n-back task levels (the 1-back and the 2-back). As seen in Figure 1B, CU with the CC genotype and CNU carrying the T allele showed a functional modulation in response to the higher cognitive demand associated with the 2-back, while the others did not almost change their activity. This represents an inverse genotype-related pattern between CU and CNU.

This cluster showed a complete overlap with the one identified in the 1-back vs. baseline contrast (835 voxels, peak activation at MNI [8, 52, -12], $z = 3.9$, and $p = 0.0093$); while in the 2-back vs. baseline, no interaction was found.

2.2.2. Cannabis Use $\times$ *CNR2* Variability Interaction Effect on Brain Function

Cannabis use and the *CNR2* polymorphism showed a significant interplay involving one cluster in the 2-back vs. 1-back contrast (792 voxels, peak activation at MNI [-38, -68, 48], $z = 3.65$, and $p = 0.00955$). The cluster was located at the left hemisphere, at the middle temporal gyrus, middle occipital gyrus, supramarginal gyrus and angular gyrus (Figure 2A). With regards to the mean activity scores in this cluster, there was an opposite genotype-related pattern between CU and CNU (Figure 2B).

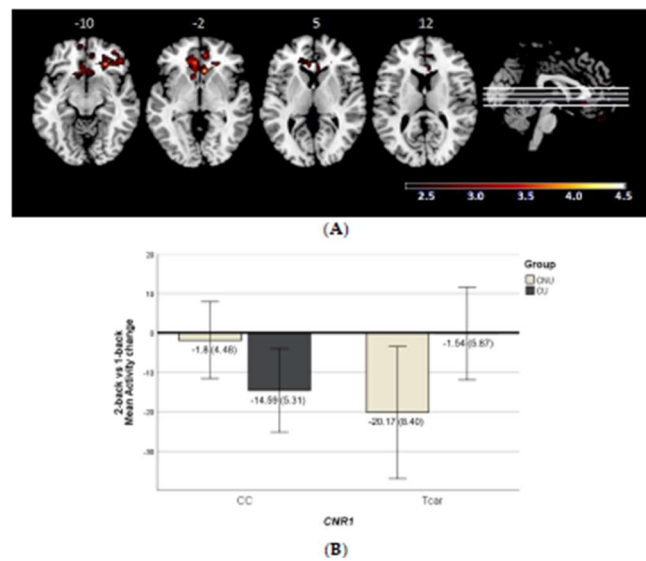


Figure 1. (A) Brain regions included in the cluster showing significant cannabinoid receptor type 1 gene ($CNR1$, rs1049353) $\times$ cannabis use interaction (CNU—cannabis non-users; CU—cannabis users) in the 2-back vs. 1-back contrast. The right side of the image represents the right side of the brain. Montreal Neurological Institute (MNI) coordinates are given for the shown slice. Units of the bar are β values from the regression model standardised to Z scores. (B) Bar plot showing marginal means of the mean activity change values ($\pm 2SE$) for the significant cluster where $CNR1 \times$ cannabis use interaction is detected in the 2-back vs. 1-back contrast.

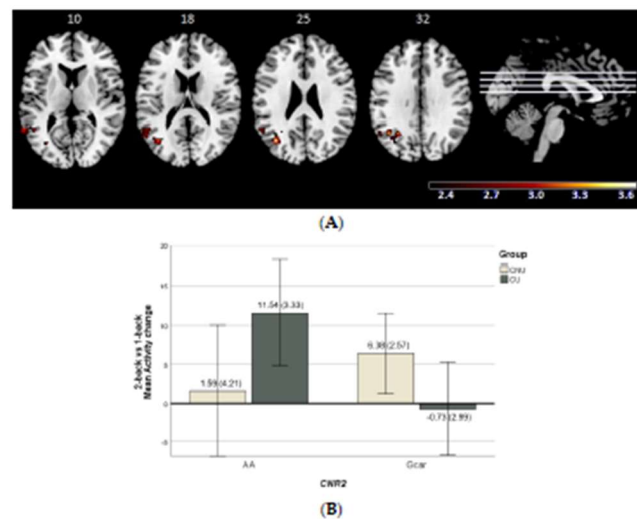


Figure 2. (A) Brain regions included in the cluster showing significant cannabinoid receptor type 2 gene ($CNR2$, rs2501431) $\times$ cannabis use interaction (CNU—cannabis non-users; CU—cannabis users) in the 2-back vs. 1-back contrast. The right side of the image represents the right side of the brain. Montreal Neurological Institute (MNI) coordinates are given for the shown slice. Units of the bar are β values from the regression model standardised to Z scores. (B) Bar plot showing marginal means of the mean activity change values ($\pm 2SE$) for the significant cluster where $CNR2 \times$ cannabis use interaction is detected in the 2-back vs. 1-back contrast.

No interaction effects were found in the other two contrasts (2-back or 1-back vs. baseline).

2.3. N-Back Behavioural Performance Analyses

Linear regression revealed no effect of cannabis use on n-back performance in any difficulty level of the task ($d'1$, $d'2$ and $d'2-d'1$). Furthermore, no significant interaction was found between *CNR1* and cannabis use on them. With regards to the interplay between cannabis use and *CNR2*, we found an interaction effect for *CNR2* and cannabis use on $d'1$ ($\beta = -1.58$, $p = 0.035$) and $d'2-d'1$ ($\beta = 1.82$, $p = 0.012$) levels (Figure 3); but not on $d'2$.

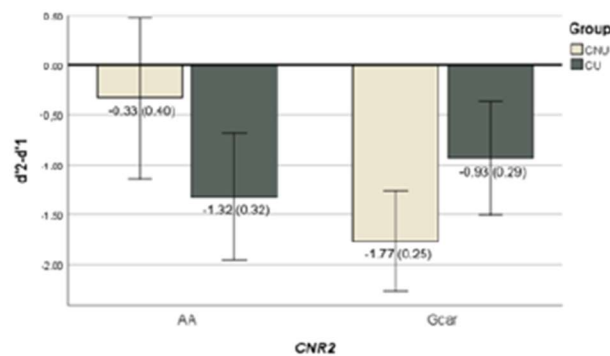


Figure 3. Bar plot showing the significant interaction between *CNR2* (*rs2501431*) $\times$ cannabis use (CNU—cannabis non-users; CU—cannabis users) in the n-back task performance. Each bar represents the marginal mean of the $d'2-d'1$ score ($\pm 2SE$) (which measures the behavioural response to the increased difficulty of the task), separately by genotypes and cannabis use groups.

3. Discussion

As far as we know, this is the first study to examine the interplay of cannabis use and the endocannabinoid receptor genes on functional neuroimaging-derived phenotypes in patients with a first-episode of psychosis. We did not detect an effect of cannabis use on brain activity when performing the n-back task. Instead, our data indicate that genetic modulation has an impact on the effect of cannabis use on brain response.

Regarding the analysis of the main effect of cannabis use on the n-back task-related brain activity, we did not observe differences between CU and CNU. These findings diverge from previous fMRI studies on schizophrenia, which showed higher activity rates in CU as compared to CNU in multiple brain areas associated with different cognitive dimensions (executive functions, verbal processing and attention, emotional processing and visuospatial abilities) [40–42]. However, our results should be interpreted in light of several aspects.

First, these previous findings were based on different tasks (e.g., emotional memory task, mental rotation task, cognitive task-present and task-absent conditions). Second, the design based on first-episode psychosis cases limits the main cannabis use effect on brain function before the onset of the psychosis, while schizophrenia-based samples (such as in previous fMRI studies) do not exclude the impact of cannabis use after the illness onset. Third, these previous studies include patients with an illness duration longer than ten years, which hampers the direct comparison of the result because duration-related illness factors can also affect brain activity. Fourth, general population-based fMRI studies performed with CU in the non-intoxicated state predominantly show the opposite effects to those observed in chronic patients with schizophrenia. Thus, CU show attenuated brain activity or activation of compensatory regions compared to CNU (for review, see [57]). In contrast, the scarce fMRI literature about patients diagnosed with schizophrenia suggests that CU tend to show better preserved functioning in areas associated with the task than non-users [40–42].

Concerning our cannabis $\times$ gene approach, our data seem to support the idea that the individual genetic background of the ECBS may influence the effect of cannabis on the brain's functional response to specific cognitive demands, which could be linked to the participation of this system in the vulnerability for psychosis [44,45]. Notably, we found evidence of a genotype $\times$ cannabis use interaction for both endocannabinoid receptor genes (*CNR1* and *CNR2*) in the 2-back vs. 1-back contrast, suggesting a modulation effect of genetics on neuronal dynamics related to working memory after cannabis exposure.

For *CNR1*, we observed an interplay between rs1049353 and cannabis use in areas that are known to have reward-related functions [58,59]. In line with our results, the ECBS has been implicated in reward-processing and reward-seeking behaviour (reviewed in [60]), which is also supported by the fact that CB1R is densely expressed in areas associated with reward processing (e.g., hippocampus, amygdala, prefrontal cortex, anterior cingulate, striatum or VTA). In this sense, substance abuse is associated with increased activity of dopaminergic neurons, which, in turn, release endocannabinoids through the activation of CB1Rs in GABA or glutamate-containing neurons [18]. Then, alterations in the ECBS by external ligands could lead to dysregulation in their associated neurotransmitter systems and functions.

Regarding the *CNR2* gene, our findings also suggest that the polymorphism rs25014131 and cannabis use are associated with brain activity changes in patients with a first-episode psychosis. While brain CB2R has lower expression levels than CB1R [20], its expression appears to be altered under certain pathological conditions (e.g., addiction, inflammation, and anxiety), suggesting that these receptors are highly inducible (reviewed in [22]). In this regard, Ishiguro et al. [61] described an increased risk of schizophrenia among people with low CB2R function, measured through its expression. These authors also identified functional changes in CB2R attending to nucleotide variants. Thus, according to these data [61], it could be hypothesised that, in patients with psychotic disorders, *CNR2* genetic variability influences CB2R activity and, finally, brain activity due to the regulation role of ECBS on other neural systems. Interestingly, we found opposite brain activation patterns for *CNR1* and *CNR2* according to cannabis use. While further data are needed, this result could be interpreted in line with the described possible opposite roles of CB1R and CB2R [23] in the reinforcement processes of substance abuse and dopamine-related behaviours.

Finally, when looking at the task execution, aligned with Løberg et al. [34] or Potvin et al. [40], we did not find differences in behavioural performance between CU and CNU. However, regarding the interaction effect between genetic variability and cannabis use on task performance, we report a significant impact of *CNR2*, but not of *CNR1*. Task performance in CU was similar for both genotypic *CNR2* variants, while among the CNU, the genotype seems to play a differential modulating role. Interestingly, when analysing together the functional and behavioural data, we observe that the genotypic groups showing a larger modulatory effect in response to the increasing task difficulty also show a wider task performance drop between the 2-back vs. the 1-back task (Gcar-for CNU- and AA-for CU).

Our study should be interpreted in the context of some limitations. First, we identified cannabis use from self-reports and medical records, and we used cannabis use as a dichotomised no/yes category. While this classification has also been implemented in previous studies [34,42,50], more extensive cannabis intake data (% of THC, age at onset, frequency, consumption via, etc.) will be valuable in future studies. Second, the sample size of our study limits our conclusions, and that is why it should be considered as a pilot approach that warrants further research. However, our sample based on the first-episode of psychosis contrasts with the previous fMRI and cannabis use studies to date [40–42], based on patients with chronic schizophrenia. To avoid potential confounding effects of differences associated with cannabis use before and after the onset of the psychotic symptoms, studies focused on the first-episode are especially useful. In addition, while we are aware of the imbalanced sample size regarding gender (77.5% males) as recent studies have proven sex-dependent effects of cannabis [62] and the ECBS [63], from our sample size, we could not develop sex-specific analyses. In this sense, our analyses of the whole

sample must be compared with previous studies using mixed samples and also showing a predominance of males [42,50]. Third, the unavailability of a control group restricts interpretations of the role of cannabis use and genetic make-up to early phases of psychotic disorders and precludes analyses in terms of health–disease status and vulnerability. Finally, to improve our understanding of causal interactions between relevant factors for psychosis, longitudinal designs would be more appropriate. For instance, future studies would benefit from follow-up studies of high-risk individuals and the analysis of cannabis use jointly with the genetic profiling of different endocannabinoid system components [45]. Additionally, based on recent data showing different epigenetic factors contributing to the regulation of cannabinoid receptors [64,65] and epigenetic changes linked to the conversion to psychosis [66], the combined analysis of genetic and epigenetic variants appears as a promising avenue for novel therapeutic targets and innovative treatment strategies.

4. Materials and Methods

4.1. Participants and Study Design

The sample comprised 40 patients with a first-episode of non-affective psychosis recruited from a psychiatric hospital in the area of Barcelona. They were all experiencing their first onset of psychosis, and the duration of psychotic symptoms was <18 months. All of them were adults (age ≥ 18 years), of European origin and right-handed.

Exclusion criteria were: (i) age above 65 years, (ii) premorbid Intelligence Quotient (IQ) < 75, (iii) history of brain trauma with loss of consciousness or neurological condition, (iv) presence of a DSM-IV affective psychotic diagnosis (mania, hypomania, and major depression with psychotic symptoms).

The patients underwent a diagnostic evaluation at admission using the Spanish version of the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID). The distribution of the diagnoses was as follows: schizophrenia ($n = 22$), schizoaffective disorder ($n = 3$), delusional disorder ($n = 1$) and unspecified psychosis ($n = 14$). Symptoms were scored using the patients' clinical evaluation, which included the Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS) [67]. Based on the PANSS, Positive, Negative and Disorganised Syndrome scores were calculated [68]. Premorbid IQ was estimated using the Word Accentuation Test (Test de Acentuación de Palabras, TAP [69]). Diagnostic evaluation and clinical and neuropsychological assessments were carried out by an experienced psychiatrist and psychologist, respectively.

4.2. Cannabis Use

All participants were asked about their use of illicit drugs, and a review of their medical history (both electronic and paper records) was carried out to check the information. Patients with alcohol/substance (except cannabis) abuse or dependence within six months before participation were excluded.

Cannabis use was assessed over each participant's lifetime. Cannabis non-users (CNU) were those that never used cannabis or used it only once. Cannabis users (CU) were those with regular cannabis use, and the majority of these patients (85%) met the criteria for the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) of cannabis abuse or dependence. When they underwent fMRI and carried out the other assessments, they had been abstinent for at least one week because of hospital admission.

4.3. fMRI Data Acquisition and fMRI Task Description

4.3.1. Acquisition Parameters

For each individual, 266 volumes were acquired during a scanning session from a 1.5-T GE Sigma scanner (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI, USA). A gradient echo-planar imaging (EPI) sequence, depicting the blood oxygenation level-dependent (BOLD) contrast was used. Each volume contained 16 axial planes acquired with the following parameters: repetition time (TR) = 2000 ms, echo time (TE) = 20 ms, flip angle = 70°, section thickness = 7 mm, section skip = 0.7 mm, and in-plane resolution = 3 × 3 mm. To avert T1 saturation effects, the 10 initial volumes were removed.

4.3.2. N-Back Task

All subjects completed a sequential letter version of the n-back task [70] during the fMRI protocol. The task execution engages many storages and executive processes related to working memory and attention. The task has two levels of memory load (1-back and 2-back) presented in a blocked design manner. Each block consists of 24 letters that are shown every 2 s (1 s on and 1 s off), and all blocks contain five repetitions located randomly within the blocks. Individuals had to indicate repetitions by pressing a button. Four 1-back and four 2-back blocks were presented in an interleaved way, and between them, a baseline stimulus (an asterisk flashing with the same frequency as the letters) was presented for 16 s. Characters were shown in green for 1-back blocks and in red for 2-back blocks to identify which level had to be performed. All participants went through a training session outside the scanner the same day and before the scanning session.

4.3.3. N-Back Performance

The behavioural measure used was the signal detection theory index sensitivity, d' score [71]. Higher values of d' indicate a better ability to discriminate between targets and distractors, while negative values indicate that subjects were not performing the task. Therefore, those individuals with negative d' values ($d'1$ for 1-back level and $d'2$ for 2-back level) in any of the two difficulty levels of the task were not included in any further analyses.

Following the same procedure as Egli et al. [72], we used the difference in performances, named $d'2-d'1$ score, as a measure to evaluate the behavioural response to the increased difficulty of the task. Smaller values of the $d'2-d'1$ score indicate a lesser ability to respond to increasing cognitive demand.

4.4. Genotyping

Genomic DNA was extracted for all individuals either from buccal mucosa using cotton swabs and ATP Genomic DNA Mini Kit Tissue (Teknokra Analítica, S.A., Sant Cugat del Vallès, Barcelona, Spain) or from peripheral blood cells using Realpure SSS Kit for DNA Extraction (Durviz, S.L.U, Valencia, Spain). Two single nucleotide polymorphisms (SNP) were genotyped: rs1049353 at *CNR1* (Chr: 6q14-q15) and rs2501431 at *CNR2* (Chr: 1p34-p35) genes. These SNPs were selected based on the following: (i) previous studies on their association with schizophrenia or cannabis use [50,73–76], and (ii) MAF in the European population > 10%. Genotyping was conducted using a fluorescence-based allelic discrimination procedure (Applied Biosystems TaqMan 5'-exonuclease assays) using standard conditions. The genotyping call rate was 93.02% for both SNPs. The method's accuracy was tested by re-genotyping 10% of the samples and confirming all the repeated genotypes. Genotype frequencies were in Hardy–Weinberg equilibrium.

4.5. Statistical Analyses

4.5.1. Clinical and Demographics Data Analyses

Clinical and demographic data of CU and CNU were evaluated through *t*-student and chi-square tests using SPSS 23.0 software (IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0, released 2015, IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

4.5.2. Neuroimaging Association Analyses

The fMRI image analyses were performed with the FEAT module included in the FSL software (Smith et al., 2004 [77]). For each individual, images were corrected for movement and co-registered to a common stereotaxic space (Montreal Neurological Institute (MNI) template). To minimise unwanted movement-related effects, individuals with an estimated maximum absolute movement > 3.0 mm or an average absolute movement > 0.3 mm were excluded from the study. Normalised volumes were spatially smoothed using the Gaussian filter with a full-width at a half-maximum of 5 mm, and general linear models (GLMs) were fitted to generate individual activation maps for three different contrasts: 1-back vs.

baseline, 2-back vs. baseline and 2-back vs. 1-back. Additionally, to control the movement parameters, the movement variables were added to the model as nuisance variables.

Statistical tests were performed at the cluster level with a corrected p -value of 0.05 and a z -threshold of 2.3 (using the Standard Field Theory correction implemented in FSL).

Second-level analyses were whole-brain corrected and were performed in all the levels of the task (1-back vs. baseline, 2-back vs. baseline and 2-back vs. 1-back). However, for the interaction analyses (cannabis $\times$ CNR1/CNR2), we focused on the 2-back vs. 1-back contrast to specifically assess working memory functional response [72], while the other comparisons helped us to interpret the significance of the association.

First, we tested the effect of cannabis (CNU vs. CU) using a regression model that compared brain activity between both groups. Then, the interaction effect of cannabis (CNU and CU) per genotype (CNR1 or CNR2) was investigated using a regression model that assessed whether the slope between groups and genotypes differed. All the regressions were adjusted for age, sex, premorbid-IQ and antipsychotic doses estimated with chlorpromazine equivalents (in mg/day).

Since homozygous for the minor alleles were present at low frequency ($n < 5$), all analyses were conducted under the dominant model with the SNPs dichotomised (CNR1: CC vs. T carriers; CNR2: AA vs. G carriers).

To interpret the direction of the interaction results, we estimated individual mean activity scores from the areas where a significant interaction was detected using the FSLSTATS tool in FSL, and afterwards, these values were plotted using SPSS.

4.5.3. Behavioural Performance Association Analyses

The effect of cannabis (CNU vs. CU), as well as the group $\times$ genotype interaction on the n -back behavioural scores, were tested for the two task levels ($d'1$ and $d'2$) as well as for their difference ($d'2-d'1$). These analyses were performed through linear regressions adjusted for age, sex and antipsychotic doses as implemented in SPSS.

5. Conclusions

Although data from this pilot study should be replicated in larger samples, our findings suggest the role of the genetic make-up as a modulator of the functional integrity of the brain in response to a working memory task in the presence of cannabis use and a first episode of psychosis. Therefore, our study points towards the interest of a better characterisation of the genetic and environmental interplay in the understanding of the heterogeneous outcomes of psychotic disorders in order to develop personalised prevention and therapeutic strategies.

Author Contributions: Conceptualization, M.O.-I., C.A.-P., M.G.-R. and M.F.-V.; Data curation, M.O.-I., C.A.-P., M.G.-R. and N.H.; Formal analysis, M.O.-I., C.A.-P., M.G.-R. and M.F.-V.; Funding acquisition, E.P.-C. and M.F.-V.; Investigation, M.O.-I., C.A.-P., A.G.-P., E.P.-C. and M.F.-V.; Methodology, M.O.-I., C.A.-P., M.G.-R., R.S., E.P.-C. and M.F.-V.; Project administration, E.P.-C. and M.F.-V.; Resources, M.O.-I., C.A.-P., A.G.-P., M.I., T.M., E.P.-C. and M.F.-V.; Supervision, M.F.-V.; Visualization, M.O.-I. and M.G.-R.; Writing—original draft, M.O.-I., C.A.-P. and M.F.-V.; Writing—review and editing, M.O.-I., C.A.-P., M.G.-R., A.G.-P., N.H., R.S., M.I., T.M., E.P.-C. and M.F.-V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study received funding provided by: (i) the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, Instituto de Salud Carlos III through the projects PI14/01151, PI15/01420 and PI18/01535, the PFIS predoctoral contracts to M Guardiola-Ripoll and N Hostalet (FI19/0352 and FI21/00093 respectively) and the Miguel Servet contract (CP20/00072) to M Fatjó-Vilas (co-funded by European Regional Development Fund (ERDF)/European Social Fund "Investing in your future"), (ii) the Comissionat per a Universitats i Recerca del DIUE of the Generalitat de Catalunya (Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR, 2021SGR1475). The funding sources played no role in the design of the study; the collection, analysis, or interpretation of data; or the decision to submit this manuscript for publication.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and ethical approval was obtained from the ethical research committee “CEIC Hermanas Hospitalarias del Sagrado Corazón de Jesús” (protocol code PR-2014-22 and date of approval 29 January 2015).

Informed Consent Statement: Written informed consent has been obtained from all the participants in this study.

Data Availability Statement: Data available from the corresponding authors upon reasonable request.

Acknowledgments: The authors wish to thank all the participants.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Hilker, R.; Helenius, D.; Fagerlund, B.; Skytthe, A.; Christensen, K.; Werge, T.M.; Nordentoft, M.; Glenthoj, B. Heritability of Schizophrenia and Schizophrenia Spectrum Based on the Nationwide Danish Twin Register. *Biol. Psychiatry* **2018**, *83*, 492–498. [\[CrossRef\]](#)
- Sullivan, P.F.; Kendler, K.S.; Neale, M.C. Schizophrenia as a Complex Trait Evidence From a Meta-analysis of Twin Studies. *Arch. Gen. Psychiatry* **2003**, *60*, 1187–1192. [\[CrossRef\]](#)
- The International Schizophrenia Consortium. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* **2009**, *460*, 748–752. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Trubetskoy, V.; Pardinas, A.F.; Qi, T.; Panagiotaropoulou, G.; Awasthi, S.; Bigdeli, T.B.; Bryois, J.; Chen, C.-Y.; Dennison, C.A.; Hall, L.S.; et al. Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia. *Nature* **2022**, *604*, 502–508. [\[CrossRef\]](#)
- Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nat. Genet.* **2013**, *45*, 984–994. [\[CrossRef\]](#)
- Laurens, K.R.; Luo, L.; Matheson, S.L.; Carr, V.J.; Raudino, A.; Harris, E.; Green, M.J. Common or distinct pathways to psychosis? A systematic review of evidence from prospective studies for developmental risk factors and antecedents of the schizophrenia spectrum disorders and affective psychoses. *BMC Psychiatry* **2015**, *15*, 205. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Tost, H.; Meyer-Lindenberg, A. Puzzling over schizophrenia: Schizophrenia, social environment and the brain. *Nat. Med.* **2012**, *18*, 211–213. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Häfner, H. From Onset and Prodromal Stage to a Life-Long Course of Schizophrenia and Its Symptom Dimensions: How Sex, Age, and Other Risk Factors Influence Incidence and Course of Illness. *Psychiatry J.* **2019**, *2019*, 9804836. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Murray, R.; Englund, A.; Abi-Dargham, A.; Lewis, D.; Di Forti, M.; Davies, C.; Sherif, M.; McGuire, P.; D’Souza, D. Cannabis-associated psychosis: Neural substrate and clinical impact. *Neuropharmacology* **2017**, *124*, 89–104. [\[CrossRef\]](#)
- Marconi, A.; Di Forti, M.; Lewis, C.; Murray, R.; Vassos, E. Meta-analysis of the Association between the Level of Cannabis Use and Risk of Psychosis. *Schizophr. Bull.* **2016**, *42*, 1262–1269. [\[CrossRef\]](#)
- Di Forti, M.; Sallis, H.; Allegrì, F.; Trotta, A.; Ferraro, L.; Stilo, S.A.; Marconi, A.; La Cascia, C.; Marques, T.R.; Pariante, C.; et al. Daily Use, Especially of High-Potency Cannabis, Drives the Earlier Onset of Psychosis in Cannabis Users. *Schizophr. Bull.* **2013**, *40*, 1509–1517. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- González-Pinto, A.; Alberich, S.; Barbeito, S.; Gutierrez, M.; Vega, P.; Ibáñez, B.; Haidar, M.K.; Vieta, E.; Arango, C. Cannabis and First-Episode Psychosis: Different Long-term Outcomes Depending on Continued or Discontinued Use. *Schizophr. Bull.* **2011**, *37*, 631–639. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mazzoncini, R.; Donoghue, K.; Hart, J.; Morgan, C.; Doody, G.A.; Dazzan, P.; Jones, P.B.; Morgan, K.; Murray, R.M.; Fearon, P. Illicit substance use and its correlates in first episode psychosis. *Acta Psychiatr. Scand.* **2010**, *121*, 351–358. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Marino, L.; Scodes, J.; Richkin, T.; Alves-Bradford, J.-M.; Nossel, I.; Wall, M.; Dixon, L. Persistent cannabis use among young adults with early psychosis receiving coordinated specialty care in the United States. *Schizophr. Res.* **2020**, *222*, 274–282. [\[CrossRef\]](#)
- Pardo, M.; Matalí, J.L.; Sivoli, J.; Regina, V.-B.; Butjosa, A.; Dolz, M.; Sánchez, B.; Barajas, A.; Del Cacho, N.; Baños, I.; et al. Early onset psychosis and cannabis use: Prevalence, clinical presentation and influence of daily use. *Asian J. Psychiatry* **2021**, *62*, 102714. [\[CrossRef\]](#)
- Melis, M.; Muntoni, A.L.M.; Pistis, M.M. Endocannabinoids and the Processing of Value-Related Signals. *Front. Pharmacol.* **2012**, *3*, 7. [\[CrossRef\]](#)
- Herkenham, M.; Lynn, A.B.; Little, M.D.; Johnson, M.R.; Melvin, L.S.; De Costa, B.R.; Rice, K.C. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 1932–1936. [\[CrossRef\]](#)
- Fernández-Ruiz, J.; Hernández, M.L.; Ramos, J.A. Cannabinoid-Dopamine Interaction in the Pathophysiology and Treatment of CNS Disorders. *CNS Neurosci. Ther.* **2010**, *16*, e72–e91. [\[CrossRef\]](#)
- Melis, M.; Pistis, M.; Perra, S.; Muntoni, A.L.; Pillolla, G.; Gessa, G.L. Endocannabinoids Mediate Presynaptic Inhibition of Glutamatergic Transmission in Rat Ventral Tegmental Area Dopamine Neurons through Activation of CB1 Receptors. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 53–62. [\[CrossRef\]](#)

20. Onaivi, E.S.; Ishiguro, H.; Gong, J.P.; Patel, S.; Perchuk, A.; Meozzi, P.A.; Myers, L.; Mora, Z.; Tagliaferro, P.; Gardner, E.; et al. Discovery of the Presence and Functional Expression of Cannabinoid CB2 Receptors in Brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2006**, *1074*, 514–536. [\[CrossRef\]](#)
21. Liu, Q.-R.; Pan, C.-H.; Hishimoto, A.; Li, C.-Y.; Xi, Z.-X.; Llorente-Berzal, A.; Viveros, M.-P.; Ishiguro, H.; Arinami, T.; Onaivi, E.S.; et al. Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): Identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav.* **2009**, *8*, 519–530. [\[CrossRef\]](#)
22. Jordan, C.J.; Xi, Z.-X. Progress in brain cannabinoid CB2 receptor research: From genes to behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2019**, *98*, 208–220. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Chen, D.-J.; Gao, M.; Gao, F.-F.; Su, Q.-X.; Wu, J. Brain cannabinoid receptor 2: Expression, function and modulation. *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, *38*, 312–316. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Zhang, H.; Bi, G.-H.; Li, X.; Li, J.; Qu, H.; Zhang, S.-J.; Li, C.-Y.; Onaivi, E.S.; Gardner, E.L.; Xi, Z.-X.; et al. Species Differences in Cannabinoid Receptor 2 and Receptor Responses to Cocaine Self-Administration in Mice and Rats. *Neuropsychopharmacology* **2014**, *40*, 1037–1051. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Schroll, H.; Vitay, J.; Hamker, F.H. Working memory and response selection: A computational account of interactions among cortico-basalganglio-thalamic loops. *Neural Netw.* **2012**, *26*, 59–74. [\[CrossRef\]](#)
26. Lee, J.; Park, S. Working Memory Impairments in Schizophrenia: A Meta-Analysis. *J. Abnorm. Psychol.* **2005**, *114*, 599–611. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Meshulam-Gately, R.L.; Giuliano, A.J.; Goff, K.P.; Faraone, S.V.; Seidman, L.J. Neurocognition in first-episode schizophrenia: A meta-analytic review. *Neuropsychology* **2009**, *23*, 315–336. [\[CrossRef\]](#)
28. Zhornitsky, S.; Pelletier, J.; Assaf, R.; Giroux, S.; Li, C.-S.R.; Potvin, S. Acute effects of partial CB1 receptor agonists on cognition—A meta-analysis of human studies. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2021**, *104*, 110063. [\[CrossRef\]](#)
29. Jacobsen, L.K.; Mencl, W.E.; Westerveld, M.; Pugh, K.R. Impact of Cannabis Use on Brain Function in Adolescents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2004**, *1021*, 384–390. [\[CrossRef\]](#)
30. Harvey, M.A.; Sellman, J.D.; Porter, R.J.; Frampton, C.M. The relationship between non-acute adolescent cannabis use and cognition. *Drug Alcohol Rev.* **2007**, *26*, 309–319. [\[CrossRef\]](#)
31. Schoeler, T.; Petros, N.; Di Forti, M.; Klammer, E.; Ajnakina, O.; Gayer-Anderson, C.; Colizzi, M.; Quattrone, D.; Behlke, I.; et al. Effects of continuation, frequency, and type of cannabis use on relapse in the first 2 years after onset of psychosis: An observational study. *Lancet Psychiatry* **2016**, *3*, 947–953. [\[CrossRef\]](#)
32. Bogaty, S.E.; Lee, R.S.; Hickie, I.B.; Hermens, D.F. Meta-analysis of neurocognition in young psychosis patients with current cannabis use. *J. Psychiatr. Res.* **2018**, *99*, 22–32. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Löberg, E.-M. Cannabis use and cognition in schizophrenia. *Front. Hum. Neurosci.* **2009**, *3*, 53. [\[CrossRef\]](#)
34. Yucel, M.; Bora, E.; Lubman, D.I.; Solowij, N.; Brewer, W.J.; Cotton, S.M.; Conus, P.; Takagi, M.J.; Fornito, A.; Wood, S.J.; et al. The Impact of Cannabis Use on Cognitive Functioning in Patients with Schizophrenia: A Meta-analysis of Existing Findings and New Data in a First-Episode Sample. *Schizophr. Bull.* **2012**, *38*, 316–330. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Mata, I.; Rodríguez-Sánchez, J.M.; Pelayo-Terán, J.M.; Pérez-Iglesias, R.; González-Blanch, C.; Ramírez-Bonilla, M.; Martínez-García, O.; Vázquez-Barquero, J.L.; Crespo-Facorro, B. Cannabis abuse is associated with decision-making impairment among first-episode patients with schizophrenia-spectrum psychosis. *Psychol. Med.* **2008**, *38*, 1257–1266. [\[CrossRef\]](#)
36. Kanayama, G.; Rogowska, J.; Pope, H.G.; Gruber, S.A.; Yurgelun-Todd, D.A. Spatial working memory in heavy cannabis users: A functional magnetic resonance imaging study. *Psychopharmacology* **2004**, *176*, 239–247. [\[CrossRef\]](#)
37. Smith, A.M.; Longo, C.A.; Fried, P.A.; Hogan, M.J.; Cameron, I. Effects of marijuana on visuospatial working memory: An fMRI study in young adults. *Psychopharmacology* **2010**, *210*, 429–438. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Schweinsburg, A.D.; Schweinsburg, B.C.; Medina, K.L.; McQueeny, T.; Brown, S.A.; Tapert, S.F. The Influence of Recency of Use on fMRI Response During Spatial Working Memory in Adolescent Marijuana Users. *J. Psychoact. Drugs* **2010**, *42*, 401–412. [\[CrossRef\]](#)
39. Jager, G.; Block, R.L.; Luijten, M.; Ramsey, N.F. Cannabis Use and Memory Brain Function in Adolescent Boys: A Cross-Sectional Multicenter Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* **2010**, *49*, 561–572. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Potvin, S.; Bourque, J.; Durand, M.; Lipp, O.; Lalonde, P.; Stip, E.; Grignon, S.; Mendrek, A. The Neural Correlates of Mental Rotation Abilities in Cannabis-Abusing Patients with Schizophrenia: An fMRI Study. *Schizophr. Res. Treat.* **2013**, *2013*, 543842. [\[CrossRef\]](#)
41. Bourque, J.; Mendrek, A.; Durand, M.; Lakis, N.; Lipp, O.; Stip, E.; Lalonde, P.; Grignon, S.; Potvin, S. Cannabis abuse is associated with better emotional memory in schizophrenia: A functional magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Res.* **2013**, *214*, 24–32. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Löberg, E.-M.; Nygård, M.; Berle, J.; Johnsen, E.; Kroken, R.A.; Jørgensen, H.A.; Hugdahl, K. An fMRI Study of Neuronal Activation in Schizophrenia Patients with and without Previous Cannabis Use. *Front. Psychiatry* **2012**, *3*, 94. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Cunha, P.J.; Rosa, P.G.P.; Ayres, A.D.M.; Duran, F.L.; Santos, L.C.; Scazufca, M.; Menezes, P.R.; dos Santos, B.; Murray, R.M.; Crippa, J.A.S.; et al. Cannabis use, cognition and brain structure in first-episode psychosis. *Schizophr. Res.* **2013**, *147*, 209–215. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

44. Pelayo-Teran, J.M.; Suarez-Pinilla, P.; Chadi, N.; Crespo-Facorro, B. Gene-Environment Interactions Underlying the Effect of Cannabis in First Episode Psychosis. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 5024–5035. [\[CrossRef\]](#)
45. Bioque, M.; Mas, S.; Costanzo, M.C.; Cabrera, B.; Lobo, A.; González-Pinto, A.; Rodríguez-Toscano, E.; Corripio, I.; Vieta, E.; Baeza, I.; et al. Gene-environment interaction between an endocannabinoid system genetic polymorphism and cannabis use in first episode of psychosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2019**, *29*, 786–794. [\[CrossRef\]](#)
46. Ujike, H.; Takaki, M.; Nakata, K.; Tanaka, Y.; Takeda, T.; Kodama, M.; Fujiwara, Y.; Sakai, A.; Kuroda, S. CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol. Psychiatry* **2002**, *7*, 515–518. [\[CrossRef\]](#)
47. Martínez-Gras, I.; Hoenicka, J.; Ponce, G.; Rodríguez-Jiménez, R.; Jiménez-Arriero, M.A.; Pérez-Hernández, E.; Ampuero, I.; Ramos-Atance, J.A.; Palomo, T.; Rubio, G. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene, CNR1: Association with schizophrenia in a Spanish population. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **2006**, *256*, 437–441. [\[CrossRef\]](#)
48. Ho, B.-C.; Wassink, T.H.; Ziebell, S.; Andreasen, N.C. Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2011**, *128*, 66–75. [\[CrossRef\]](#)
49. Kuzman, M.R.; Kuharic, D.B.; Ganoci, L.; Makaric, P.; Kekic, I.; Gajsek, L.R.; Prpic, N.; Bozina, T.; Bajić, Z.; Bozina, N. Association of CNR1 genotypes with changes in neurocognitive performance after eighteen-month treatment in patients with first-episode psychosis. *Eur. Psychiatry* **2019**, *61*, 88–96. [\[CrossRef\]](#)
50. Suárez-Pinilla, P.; Roiz-Santiañez, R.; de la Foz, V.O.-G.; Guest, P.C.; Ayasa-Arriola, R.; Córdova-Palamera, A.; Tordesillas-Gutierrez, D.; Crespo-Facorro, B. Brain structural and clinical changes after first episode psychosis: Focus on cannabinoid receptor 1 polymorphisms. *Psychiatry Res.* **2015**, *233*, 112–119. [\[CrossRef\]](#)
51. Gouvêa, E.S.; Filho, A.F.S.; Ota, V.K.; Mrad, V.; Gadelha, A.; Bressan, R.A.; Cordeiro, Q.; Belangero, S.I. The role of the CNR1 gene in schizophrenia: A systematic review including unpublished data. *Revista Brasileira de Psiquiatria* **2017**, *39*, 160–171. [\[CrossRef\]](#)
52. Onwuameze, O.E.; Nam, K.W.; Epping, E.A.; Wassink, T.H.; Ziebell, S.; Andreasen, N.C.; Ho, B.-C. MAPK14 and CNR1 gene variant interactions: Effects on brain volume deficits in schizophrenia patients with marijuana misuse. *Psychol. Med.* **2013**, *43*, 619–631. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Schacht, J.P.; Hutchison, K.E.; Filbey, F.M. Associations between Cannabinoid Receptor-1 (CNR1) Variation and Hippocampus and Amygdala Volumes in Heavy Cannabis Users. *Neuropsychopharmacology* **2012**, *37*, 2368–2376. [\[CrossRef\]](#)
54. Colizzi, M.; Iyegbe, C.; Powell, J.; Ursini, G.; Porcelli, A.; Bonvino, A.; Taurisano, P.; Romano, R.; Masellis, R.; Blasi, G.; et al. Interaction between Functional Genetic Variation of DRD2 and Cannabis Use on Risk of Psychosis. *Schizophr. Bull.* **2015**, *41*, 1171–1182. [\[CrossRef\]](#)
55. Taurisano, P.; Antonucci, L.A.; Fazio, L.; Rampino, A.; Romano, R.; Porcelli, A.; Masellis, R.; Colizzi, M.; Quarto, T.; Torretta, S.; et al. Prefrontal activity during working memory is modulated by the interaction of variation in CB1 and COX2 coding genes and correlates with frequency of cannabis use. *Cortex* **2016**, *81*, 231–238. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Taurisano, P.; Pergola, G.; Monda, A.; Antonucci, L.A.; Di Carlo, P.; Piarulli, F.; Passiatore, R.; Papalino, M.; Romano, R.; Monaco, A.; et al. The interaction between cannabis use and a CB1-related polygenic co-expression index modulates dorsolateral prefrontal activity during working memory processing. *Brain Imaging Behav.* **2021**, *15*, 288–299. [\[CrossRef\]](#)
57. Quickfall, J.; Crockford, D. Brain Neuroimaging in Cannabis Use: A Review. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* **2006**, *18*, 318–332. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Haber, S.N.; Knutson, B. The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35*, 4–26. [\[CrossRef\]](#)
59. Oldham, S.; Murawski, C.; Fornito, A.; Youssef, G.; Yücel, M.; Lorenzetti, V. The anticipation and outcome phases of reward and loss processing: A neuroimaging meta-analysis of the monetary incentive delay task. *Hum. Brain Mapp.* **2018**, *39*, 3398–3418. [\[CrossRef\]](#)
60. Curran, H.V.; Freeman, T.; Mokrysz, C.; Lewis, D.; Morgan, C.J.A.; Parsons, L.H. Keep off the grass? Cannabis, cognition and addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* **2016**, *17*, 293–306. [\[CrossRef\]](#)
61. Ishiguro, H.; Horiuchi, Y.; Ishikawa, M.; Koga, M.; Imai, K.; Suzuki, Y.; Morikawa, M.; Inada, T.; Watanabe, Y.; Takahashi, M.; et al. Brain Cannabinoid CB2 Receptor in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2010**, *67*, 974–982. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Coleman, J.R.; Madularu, D.; Ortiz, R.J.; Athanassiou, M.; Knudsen, A.; Alkisar, I.; Cai, X.; Kulkarni, P.P.; Cushing, B.S.; Ferris, C.F. Changes in brain structure and function following chronic exposure to inhaled vaporized cannabis during periadolescence in female and male mice: A multimodal MRI study. *Addict. Biol.* **2022**, *27*, e13169. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Spindle, T.R.; Kuwabara, H.; Eversole, A.; Nandi, A.; Vandrey, R.; Antoine, D.G.; Umbricht, A.; Guarda, A.S.; Wong, D.F.; Weerts, E.M. Brain imaging of cannabinoid type I (CB1) receptors in women with cannabis use disorder and male and female healthy controls. *Addict. Biol.* **2021**, *26*, e13061. [\[CrossRef\]](#)
64. Basavarajappa, B.S.; Subbanna, S. Molecular Insights into Epigenetics and Cannabinoid Receptors. *Biomolecules* **2022**, *12*, 1560. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Tao, R.; Li, C.; Jaffe, A.E.; Shin, J.H.; Deep-Soboslay, A.; Yamin, R.; Weinberger, D.R.; Hyde, T.M.; Kleinman, J.E. Cannabinoid receptor CNR1 expression and DNA methylation in human prefrontal cortex, hippocampus and caudate in brain development and schizophrenia. *Transl. Psychiatry* **2020**, *10*, 158. [\[CrossRef\]](#)
66. Kebir, O.; the ICAAR team; Chaumette, B.; Rivollier, F.; Miozzo, F.; Perreault, L.P.L.; Barhdadi, A.; Provost, S.; Plaze, M.; Bourgin, J.; et al. Methylation changes during conversion to psychosis. *Mol. Psychiatry* **2017**, *22*, 512–518. [\[CrossRef\]](#)

67. Kay, S.R.; Fiszbein, A.; Opler, L.A. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **1987**, *13*, 261–276. [\[CrossRef\]](#)
68. Wallwork, R.; Fortgang, R.; Hashimoto, R.; Weinberger, D.; Dickinson, D. Searching for a consensus five-factor model of the Positive and Negative Syndrome Scale for schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2012**, *137*, 246–250. [\[CrossRef\]](#)
69. Gomar, J.J.; Ortiz-Gil, J.; McKenna, P.J.; Salvador, R.; Sans-Sansa, B.; Sarró, S.; Guerrero, A.; Pomarol-Clotet, E. Validation of the Word Accentuation Test (TAP) as a means of estimating premorbid IQ in Spanish speakers. *Schizophr. Res.* **2011**, *128*, 175–176. [\[CrossRef\]](#)
70. Gevins, A.; Cuttill, B. Spatiotemporal dynamics of component processes in human working memory. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **1993**, *87*, 128–143. [\[CrossRef\]](#)
71. Green, D.M.; Swets, J.A. *Signal Detection Theory and Psychophysics*; John Wiley: Oxford, UK, 1966.
72. Egli, T.; Coyne, D.; Spalek, K.; Fastenrath, M.; Freytag, V.; Heck, A.; Loos, E.; Auschra, B.; Papassotiropoulos, A.; De Quervain, D.J.-F.; et al. Identification of Two Distinct Working Memory-Related Brain Networks in Healthy Young Adults. *eNeuro* **2018**, *5*, ENEURO.0222-17.2018. [\[CrossRef\]](#)
73. Hill, S.Y.; Sharma, V.; Jones, B.L. Lifetime use of cannabis from longitudinal assessments, cannabinoid receptor (CNRI) variation, and reduced volume of the right anterior cingulate. *Psychiatry Res. Neuroimaging* **2016**, *255*, 24–34. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
74. Costa, M.; Squassina, A.; Congiu, D.; Chillotti, C.; Niola, P.; Galderisi, S.; Pistis, M.; Del Zompo, M. Investigation of endocannabinoid system genes suggests association between peroxisome proliferator activator receptor- α gene (PPARA) and schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2013**, *23*, 749–759. [\[CrossRef\]](#)
75. Hamdani, N.; Tabeze, J.-P.; Ramoz, N.; Ades, J.; Hamon, M.; Sarfati, Y.; Boni, C.; Gorwood, P. The CNRI gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2008**, *18*, 34–40. [\[CrossRef\]](#)
76. Gerra, M.C.; Jayanthi, S.; Manfredini, M.; Walther, D.; Schroeder, J.; Phillips, K.A.; Cadet, J.L.; Donnini, C. Gene variants and educational attainment in cannabis use: Mediating role of DNA methylation. *Transl. Psychiatry* **2018**, *8*, 23. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Smith, S.M.; Jenkinson, M.; Woolrich, M.W.; Beckmann, C.F.; Behrens, T.E.J.; Johansen-Berg, H.; Bannister, P.R.; De Luca, M.; Drobnjak, I.; Flitney, D.E.; et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* **2004**, *23* (Suppl. 1), S208–S219. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. Contexto y resumen de los principales resultados de la tesis

La heterogeneidad epidemiológica y clínica de los primeros episodios psicóticos (PEPs), supone un reto en la identificación de nuevas dianas terapéuticas y el desarrollo de tratamientos personalizados para la psicosis. En este sentido, el sistema endocannabinoide (SEC) constituye una alternativa a la modulación dopaminérgica de los tratamientos convencionales, con perspectivas de aplicación a la luz de los últimos hallazgos.

En vista del conocimiento actual, la presente tesis se ha centrado en estudiar la implicación del SEC en la fisiopatología de la psicosis, y en comprender si la variabilidad del fenotipo clínico, cognitivo y la actividad cerebral asociados a los PEPs está modulada por el consumo de cannabis y los polimorfismos genéticos de los receptores cannabinoides. Nuestros resultados resaltan el papel de las interacciones genéticas con el consumo de cannabis, como diferenciadores del resultado de la patología. Hasta donde sabemos, el nuestro es el primer estudio que analiza de manera simultánea la modulación del efecto del cannabis y de los genotipos de los receptores cannabinoides sobre la activación cerebral en pacientes con PEP, valorando específicamente el posible efecto interacción entre ambos elementos. A la vista de nuestros hallazgos, podríamos considerar que el SEC, mediado por el genotipo de los receptores cannabinoides, participa en la modulación del efecto del consumo de cannabis sobre los cambios clínicos, cognitivos y funcionales en el cerebro en las fases tempranas de los trastornos psicóticos. Estas diferencias en función del consumo de cannabis, así como la modulación genética del efecto de dicho consumo, deberían ser objeto de nuevos estudios para desentrañar su naturaleza.

5.2. Análisis de los principales resultados de la tesis con relación a las evidencias actuales

A continuación, se discuten los hallazgos de la tesis en el contexto de las evidencias actuales. Este análisis de las similitudes y diferencias entre los hallazgos de los estudios presentados y los estudios anteriores se estructura teniendo en cuenta los principales ejes de tesis en el contexto de los trastornos psicóticos: i) el efecto del consumo de cannabis sobre el perfil clínico-cognitivo y neurobiológico, ii) el efecto de la variabilidad genética en los receptores cannabinoides sobre el perfil clínico-cognitivo y neurobiológico, iii) el efecto de la interacción genética- cannabis sobre el perfil clínico-cognitivo y neurobiológico.

5.2.1. Efecto del consumo de cannabis sobre el perfil sintomático, cognitivo y de actividad cerebral en la psicosis

Los datos generados en el contexto de esta tesis, así como estudios previos, sugieren que el consumo de cannabis puede influir significativamente en el perfil sintomático y cognitivo de los pacientes, así como en la actividad cerebral.

Con relación a los efectos del cannabis en sujetos con PEP sobre el fenotipo clínico, nuestros datos apoyan la asociación del consumo de cannabis con los síntomas positivos, observado una tendencia hacia una mayor severidad de estos entre los consumidores respecto de los no consumidores. Nuestros datos, aun teniendo que ser interpretados con cautela por estar al límite de la significación estadística, se suman a diferentes estudios que han descrito esta relación en poblaciones con variables grados de vulnerabilidad al desarrollo de psicosis. Concretamente, han descrito que el consumo agrava los síntomas positivos en pacientes con diagnóstico de esquizofrenia, en (88,281), así como con PEP (239,243). De forma similar, esta asociación se ha observado también en sujetos con alto riesgo para el desarrollo de psicosis (definidos como aquellos que presentan síntomas psicóticos atenuados y/o síntomas psicóticos intermitentes breves y/o un riesgo genético combinado con un declive reciente del funcionamiento), siendo los consumidores de cannabis, también, los que presentaban mayor gravedad de los síntomas positivos (328). En cambio, a pesar de que algunos

estudios también describen un efecto sobre los síntomas negativos (236,243), en nuestro estudio, no observamos dicha asociación.

La interpretación de estos resultados ha conllevado la pregunta de si la asociación entre el uso de cannabis y los síntomas psicóticos es causal. En los últimos años, han surgido diversas hipótesis que vinculan el consumo de cannabis con la psicosis sin atribuir necesariamente una relación causal directa, enfocándose en factores como la predisposición genética, la interacción con otros trastornos mentales subyacentes o la influencia de factores socioambientales que podrían mediar en el desarrollo de los síntomas psicóticos. Además, para explicar la comorbilidad del consumo de sustancias y la esquizofrenia, se ha propuesto también que dicha asociación resulte de un intento de automedicación (73,329–331).

A favor de la relación de causalidad, la evidencia experimental en sujetos sanos (226,332) demostró que el THC produce una amplia gama de síntomas transitorios, comportamientos y déficits cognitivos que se asemejan a algunos aspectos de las psicosis endógenas. A este respecto, desde el punto de vista neurobiológico, se ha propuesto que el aumento inicial de la dopamina prefrontal asociado al consumo de cannabis puede mejorar ciertos síntomas (278), pero que el consumo de cannabis a largo plazo produce la reducción persistente de la dopamina de la corteza prefrontal y tiene un impacto sobre el rendimiento cognitivo y la persistencia de síntomas negativos (81,218,333). En base a estos datos, algunos autores han sugerido un modelo de "alivio de la disforia", más que propiamente de automedicación (334–336), según el cual los pacientes consumirían cannabis por el mismo motivo que la población general, que es fundamentalmente el hedonista, así como aliviar estados emocionales negativos.

Los estudios longitudinales, que después de los experimentales son los que tienen un diseño más adecuado para evaluar la relación temporal entre el factor de riesgo y el efecto clínico, han demostrado de forma consistente que el consumo regular de cannabis se asocia a un mayor riesgo de experimentar síntomas psicóticos y desarrollar psicosis (337,338). Con respecto a esto, los estudios con muestras de PEPs son especialmente relevantes, pues permiten establecer de forma más precisa la

secuencia temporal entre el consumo previo de cannabis y el debut posterior de los síntomas psicóticos.

Sin embargo, las investigaciones acerca de la afectación cognitiva por el consumo de cannabis en pacientes con PEP han arrojado resultados dispares. Por un lado, algunos describen un mejor rendimiento en los pacientes no consumidores (283,339).

Por otro lado, otros estudios recientes en muestras de pacientes con PEP refuerzan la ausencia de contrastes significativos entre los consumidores de cannabis y los no consumidores (287,340). En la comprensión del efecto del cannabis en la presentación clínico-cognitiva de los trastornos psicóticos, la relación entre la edad de inicio del consumo y de los síntomas es particularmente relevante. Los pacientes consumidores suelen presentar un inicio más temprano de la enfermedad en comparación con aquellos que no lo consumen (341). Además, el hecho de que un consumo más temprano se asocie con un debut más precoz señala procesos patofisiológicos de los trastornos psicóticos potencialmente comunes con los mecanismos de acción del cannabis (294,341). Este hecho es particularmente importante en el caso de las muestras de pacientes con PEP, por tratarse de pacientes jóvenes en que el potencial efecto del cannabis se da sobre un cerebro aún en desarrollo, por tanto, más sensible a su impacto. Sumado a esto, los pacientes con psicosis que consumen cannabis suelen tener un coeficiente intelectual más alto (294,342) y un coeficiente intelectual y una función social premórbidos superiores (343). En la muestra de esta tesis, sin embargo, si bien los pacientes consumidores de cannabis, en línea con lo previamente explicado, son más jóvenes y con un coeficiente de inteligencia premórbido más elevado en comparación con los no consumidores, las diferencias no llegan a ser significativas. En otro metaanálisis específico de pacientes con PEP se describe que el consumo de cannabis no se asocia generalmente con diferencias en el funcionamiento neurocognitivo; no obstante, se plantean, siguiendo la idea previa, la hipótesis de que los pacientes con PEP consumidores de cannabis podrían representar un subgrupo de individuos con mejor funcionamiento cognitivo (288). En nuestra muestra los resultados serían convergentes con la ausencia de efecto entre los grupos de consumo de cannabis, observada tanto en el desempeño de la realización de la tarea de n-back, como en todos los test cognitivos realizados (salvo en la prueba de

matrices del WAIS). Podríamos pensar que, quizá, debido a un mejor funcionamiento basal de los pacientes consumidores, el efecto deletéreo del consumo queda oculto, no encontrándose diferencias entre ambos grupos de consumo.

El hecho de que en nuestro trabajo sí observemos que los consumidores de cannabis presentan mejor rendimiento en una medida de IQ manipulativo como es el test de matrices del WAIS (344), revela un efecto paradójico sobre la cognición para la misma (no para el resto de tareas). En este sentido, nuestros datos se suman a otros que describen que los pacientes con psicosis que consumen cannabis presentan un mejor rendimiento cognitivo en comparación con aquellos que no lo consumen (293,312,345–347). La hipótesis explicativa de esta paradoja propone que se trataría de pacientes con déficits premórbidos más leves en las características fenotípicas clave de la esquizofrenia (disfunción cognitiva, síntomas negativos, etc.), de manera que los pacientes con psicosis que consumen cannabis podrían experimentar un menor deterioro y contar con una mayor reserva cognitiva en comparación con los que no consumen (290). Apoyando esta idea, el estudio de neuroimagen estructural en pacientes con PEP de Cunha et al. (290) halló que estos pacientes presentan menos cambios cerebrales respecto de los sujetos sanos, como mejor conservación de la materia gris y de los volúmenes de los ventrículos laterales. Esta teoría estaría también respaldada por otros estudios que informaron menos signos neurológicos en pacientes con PEP que consumen cannabis (348,349).

Otra explicación del hallazgo de estas diferencias cognitivas entre grupos de consumo para la prueba de matrices podría ser que se trate de una asociación espuria, o que sea un dominio para el que, particularmente, sí existan, por ser de mayor sensibilidad a los efectos del cannabis. Bajo esta perspectiva, hay investigaciones que sugieren que los pacientes con PEP con antecedentes de consumo de cannabis pueden realmente mostrar un mejor funcionamiento cognitivo en comparación con los no consumidores, particularmente en memoria visual, memoria de trabajo (MT) y funciones ejecutivas (293). Además, otros factores como la reserva cognitiva (350) o la historia familiar (285) de psicosis podrían estar mediando esta relación entre el consumo de cannabis y la funcionalidad cognitiva.

Por tanto, se requiere de nuevas investigaciones para establecer el impacto del consumo de cannabis y cómo varía éste en función de las características premórbidas de cada persona. En este sentido, los estudios de resonancia magnética funcional (RMf) pueden aportar avances en el conocimiento sobre las bases neurobiológicas de los efectos cognitivos del consumo de cannabis.

Hasta donde sabemos, sólo cuatro estudios de RMf han examinado los correlatos neuronales del funcionamiento cognitivo durante la realización de una tarea en pacientes con esquizofrenia consumidores de cannabis (309–311,313). Tres de los cuatro estudios de este tipo informan de una actividad cerebral mejor conservada (patrones de actividad cerebral más similares a cerebros sanos) en los pacientes con esquizofrenia consumidores de cannabis en relación con los no consumidores. Vemos estas diferencias en áreas asociadas con el procesamiento emocional (309), las habilidades visoespaciales (310), el procesamiento verbal y la atención y el funcionamiento ejecutivo (309,311). También se reporta en dos de estos estudios (309,311) un desempeño de la tarea de RMf menos deteriorado en el grupo de diagnóstico dual que en los pacientes con esquizofrenia no consumidores de cannabis.

De entre estos estudios, el de Potvin et al. (310) sugiere que los consumidores de cannabis pueden mantener un rendimiento similar en tareas cognitivas gracias al reclutamiento adicional o diferente de recursos neuronales, incluso si su actividad cerebral está alterada. Este fenómeno podría explicar la ausencia de efectos negativos del cannabis en el rendimiento cognitivo, como también indican nuestros datos.

El estudio de RMf con un diseño más similar al nuestro sería el de Løberg et al. (311), que empleó tareas relacionadas con el procesamiento verbal y el control cognitivo, con las que la MT está íntimamente relacionada (351). En este estudio se observó un mejor rendimiento en los sujetos consumidores y también diferencias entre grupos en la actividad cerebral asociada a la realización de las tareas cognitivas. No obstante, los hallazgos de nuestro estudio en pacientes con PEP no apoyarían estas diferencias en relación con el rendimiento cognitivo en la tarea n-back entre grupos de consumo, ni tampoco en cuanto a sus correlatos de neuroimagen.

Finalmente, en el último de los cuatro estudios de RMf en pacientes psicóticos consumidores de cannabis, al contrario que los previos, reportaron que los pacientes consumidores crónicos de cannabis muestran una disminución en el rendimiento de la realización de la tarea, relacionada con la recompensa, así como menor activación cerebral (ínsula anterior y posterior y tálamo derecho) en comparación con los no consumidores (313).

Nuestros datos ponen de manifiesto, junto a los previos, la importancia de diferentes factores que, posiblemente, podrían explicar las discrepancias entre estudios explicadas en los párrafos anteriores. En primer lugar, los estudios anteriores se realizan con muestras de pacientes con esquizofrenia, con los cambios que el propio transcurso de la enfermedad o el tratamiento puede asociar, en comparación con la corta evolución de los pacientes con un PEP. Por ejemplo, los pacientes consumidores del estudio de Fish et al. (313) tienen una duración de enfermedad de 6.67 años, siendo de hasta 10.6 años en los estudios de Potvin et al. y Bourque et al. (309,310) e incluso 13.38 años en el de Loberg et al. (311). Respecto del tratamiento farmacológico, en todos los estudios, en convergencia con el nuestro, no se encuentran diferencias en la dosis equivalente de antipsicóticos entre ambos grupos de consumo de pacientes. En cuanto al tamaño muestral, el nuestro consta de 40 pacientes en el caso del estudio de RMf, mientras que el resto de estudios presentan tamaños muestrales menores (26 pacientes en el trabajo de Loberg et al. (311), 28 en el de Bourque et al. (309), 34 en el de Fish et al. (313) y 35 en el de Potvin et al. (310)). Sin embargo, estos tres últimos estudios tienen la ventaja frente al nuestro de tener también un grupo control de sujetos sanos, incluso Fish et al. (313) los divide a su vez en consumidores y no consumidores de cannabis, aportando una comparativa que en nuestro caso no puede llevarse a cabo. Finalmente, como hemos explicado con más detalle previamente, los paradigmas utilizados en cada uno de los estudios difieren del nuestro y entre sí. Por tanto, son varios los factores para tener en cuenta a la hora de poder sacar conclusiones en la comparativa de estos estudios. En definitiva, la evidencia previa de estudios de RMf en pacientes con esquizofrenia es escasa y heterogénea en cuanto al diseño y muestras utilizados, lo que dificulta la comparabilidad directa de nuestros hallazgos y, por tanto, alcanzar conclusiones definitivas.

5.2.2. Efecto de la variabilidad genética sobre los síntomas psicóticos, la función cognitiva y la activación cerebral

En la investigación etiológica de la psicosis, la variabilidad genética de los receptores cannabinoides emerge como un factor modulador de los síntomas psicóticos, el rendimiento cognitivo y la actividad cerebral en trastornos psicóticos, representando un aspecto central de esta tesis.

Con respecto a la sintomatología, nuestros resultados sugieren un papel de *CNR1* en la severidad de los síntomas, específicamente de los de tipo desorganizado. Estos hallazgos convergen con los de otros estudios en esquizofrenia (193,253), en los que se describe también la asociación de variantes genéticas del *CNR1* y los síntomas desorganizados. Además, la literatura describe también un efecto del *CNR1* rs1049353 sobre otros fenotipos como la respuesta al tratamiento antipsicótico (201) o el volumen cerebral (352). En cuanto al receptor CB2, por el contrario, no hemos descrito la influencia de *CNR2* en los síntomas. Estos resultados son difíciles de comprar con datos previos, ya que, hasta donde conocemos, no existen estudios de asociación genética previos que hayan analizado el efecto de este receptor sobre los síntomas en el perfil psicopatológico de pacientes con psicosis. Por tanto, la diferencia de resultados en función del tipo de receptor sugiere la necesidad de explorar la especificidad de la asociación en base al papel fisiológico de cada receptor. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a dicha asociación son difíciles de establecer. Y es que, entre la evaluación de la variabilidad genética y la expresión clínica de la enfermedad existe un “largo camino neurobiológico”, el cual, con los datos de nuestros estudios, podemos dibujar sólo de manera indirecta. Es decir, sabemos que, además de la variabilidad biológica relacionada con los cambios de secuencia del ADN, existen múltiples otras fuentes de variabilidad como la generada por los mecanismos reguladores de la expresión génica, y que es el conjunto de esta variabilidad la que modula la disponibilidad y funcionalidad final de los receptores. Por ejemplo, se ha descrito que el polimorfismo estudiado de *CNR1* se sitúa en el exón 4 y, aunque no implica un cambio de aminoácido en la proteína CB1R (353), afecta la estabilidad del ARNm, lo que podría modular los niveles de ARNm como la disponibilidad de final de receptor CB1 (354). También se han observado cambios epigenéticos como la

metilación del ADN en el promotor del gen *CNR1* en pacientes con esquizofrenia en comparación a personas sin este diagnóstico, lo que vuelve a sugerir la importancia de la regulación de la expresión de este gen en la psicosis (131,355).

En este punto es interesante mencionar que, como se ha presentado en la introducción, diferentes estudios han descrito diferencias de expresión de ARNm de los receptores CB1 y CB2 en pacientes con psicosis (130–132) y que los cambios de expresión se han relacionado con la gravedad de los síntomas (137). Por tanto, los resultados presentados en esta tesis, junto a otros estudios, contribuyen, por un lado, a trazar el camino desde la variabilidad genética hasta la variabilidad fisiológica cerebral y, por otro, sugieren la relevancia de conocer mejor el impacto funcional de variantes genéticas del gen *CNR1*, para establecer la relación entre la variabilidad genética, la disponibilidad de proteína (receptor) y los síntomas desorganizados.

Con relación a la función cognitiva, si bien nuestros datos no indican asociaciones genéticas (ni con los test cognitivos, ni con el rendimiento en la tarea n-back), algunos estudios previos sí que han reportado la influencia de la variabilidad genética de *CNR1* sobre varios dominios cognitivos, entre los que se encuentran velocidad motora y fluidez verbal (320), razonamiento/resolución de problemas (319,320); velocidad de procesamiento/atención (260,319,320), memoria verbal (260), o sobre los volúmenes cerebrales (252). Estos hallazgos convergen con cambios de expresión de este receptor en pacientes con esquizofrenia en áreas cerebrales involucradas algunas de esas funciones cognitivas, como la atención o las funciones ejecutivas, como son la corteza prefrontal dorsolateral y la corteza cingulada anterior (139,145,148).

En cuanto al CB2R, diversos hallazgos apoyan también la implicación de este receptor en el rendimiento cognitivo en sujetos con psicosis, tanto en estudios que cuantifican el propio receptor (322,324), como su ARNm (130). Aunque nuestros resultados no indican un efecto directo de *CNR2* sobre las funciones cognitivas evaluadas, sí que hemos observado un efecto de interacción entre la variabilidad genética del CB2R y el consumo de cannabis, específicamente en las habilidades manipulativas y de MT. De la misma manera, los resultados obtenidos en el contexto

de esta tesis no incluyen asociaciones entre las variables genéticas de los polimorfismos genéticos de los receptores cannabinoides estudiados y la actividad cerebral evaluada mediante RMf durante la realización de una tarea de MT, pero sí que describen su interacción con el consumo de cannabis. Dichas interacciones, que comentaremos en el siguiente apartado, darían soporte a la implicación de la variabilidad genética de estos genes en la disfunción cognitiva de la psicosis.

5.2.3. Efecto de la interacción del consumo de cannabis y la variabilidad genética sobre los síntomas psicóticos, la cognición y la actividad cerebral

Los datos de esta tesis describen la modulación genética del efecto del cannabis sobre las habilidades cognitivas y la activación cerebral, pero no sobre la severidad de los síntomas psicóticos. En concreto, hemos evidenciado la interacción entre el consumo de cannabis y ambos genotipos de *CNR1* y *CNR2* sobre la actividad cerebral. Además, hemos descrito la interacción del consumo de cannabis y el gen *CNR2* sobre el rendimiento cognitivo general de tipo manipulativo y la MT.

En primer lugar, identificamos que las variantes genéticas de *CNR1* y *CNR2* influyen en cómo el consumo de cannabis afecta a la respuesta cerebral asociada al incremento de dificultad en la realización de una tarea de MT durante un protocolo de RMf. Es decir, en función de los genotipos de los que un sujeto es portador y de si ha consumido cannabis o no, varía la activación cerebral registrada cuando aumenta el nivel de demanda para ejecutarla. Además, es interesante que las áreas cerebrales donde se observa dicha interacción incluyen el núcleo caudado, la corteza cingulada y la corteza orbitofrontal, implicadas en aprendizaje y memoria, emociones, toma de decisiones y sistema de recompensa cerebral (356–358).

Este resultado converge con algunos hallazgos previos en sujetos sanos. Concretamente, encontramos en la literatura una interacción entre el polimorfismo rs1406977 de *CNR1* y el consumo de cannabis sobre la conectividad funcional en la corteza prefrontal ventrolateral izquierda (318) y la actividad (303) de la corteza prefrontal durante el rendimiento en una tarea n-back de MT. En otro estudio, también en sujetos sanos, la co-expresión de una red molecular que incluye *CNR1* predice la

activación prefrontal relacionada con la MT en función del consumo de cannabis (326). En otras palabras, el consumo de cannabis parece cambiar la relación entre la co-expresión de una red genética implicada en la señalización endocannabinoide y la eficiencia del procesamiento de la información en las redes neuronales que subyacen a los procesos cognitivos implicados en la MT. Por tanto, al igual que en nuestros resultados, en estos estudios mencionados basado en población general sana, la intermodulación entre los genes de los receptores cannabinoides y el cannabis parece tener un efecto biológico sobre la actividad cerebral. Sin embargo, hasta donde sabemos, no existen estudios de neuroimagen funcional con nuestro mismo diseño o similar que investiguen el efecto interacción en muestras de pacientes con psicosis, lo que imposibilita una comparación directa con este tipo de sujetos. Aun así, existen algunos estudios en resonancia magnética estructural que van en línea con nuestro resultado de efecto interacción de *CNR1* con el consumo de cannabis sobre la actividad cerebral en pacientes con PEP. Por ejemplo, encontramos el estudio de Ho et al. (319) en personas con esquizofrenia, que muestra la modulación por parte del *CNR1* del efecto del cannabis sobre el volumen de la materia blanca, además de sobre el deterioro neurocognitivo. Otro estudio en pacientes con esquizofrenia ha encontrado que los polimorfismos del gen *CNR1* interactúan con el consumo de cannabis, afectando funciones cognitivas y estructuras cerebrales sobre la memoria verbal y la atención tras 18 meses de tratamiento (260). En definitiva, los resultados previos y nuestros hallazgos nos proporcionan nuevos conocimientos sobre los mecanismos biológicos asociados a la función cognitiva en psicosis, en este caso en concreto a la MT.

En cuanto a *CNR2*, si bien son múltiples los hallazgos de la literatura que demuestran su papel en la cognición, como hemos visto previamente, los trabajos que investigan su interacción con el consumo de cannabis en psicosis son prácticamente inexistentes. No obstante, nuestro resultado pone de relieve que en pacientes con PEP el consumo de cannabis se asocia a diferentes cambios fenotípicos en función de la variabilidad alélica en este gen. Es interesante, que en un estudio basado en un modelo de ratones con un CB2R de baja funcionalidad (heterocigotos, knockout), éstos eran más sensibles a los efectos de factores estresantes emocionales e inmunológicos,

presentando un mayor riesgo para conductas depresivas (359). Aunque que este estudio no evaluó fenotipos relacionados con la psicosis, de los resultados es destacable la repercusión funcional de la variante genética que finalmente acaba dando lugar, a través de su interacción con otros factores, a cambios psicopatológicos. Este modelo refleja el papel modulador de CB2R sobre los efectos de factores de estrés sobre la vulnerabilidad para presentar diferentes fenotipos psiquiátricos. Estos hallazgos encajan con estudios que proponen que la expresión del receptor CB2 incrementa como respuesta a diferentes factores estresantes como el dolor crónico (360), la hipoxia isquémica (361), la adicción a drogas (362,363) o diversas patologías neurológicas (364), proporcionando efectos neuroprotectores (364,365). Por tanto, estos datos señalan al CB2R como una diana particularmente interesante para comprender la regulación génica de la sensibilidad a los factores ambientales y que puede ofrecer enfoques terapéuticos prometedores para diversas afecciones psiquiátricas y neurológicas.

Nuestros resultados de interacción que implican a los genes *CNR1* y *CNR2* son un ejemplo de cómo el análisis del impacto de factores aislados no revela un efecto clínico directo de estos, mientras que el análisis de interacciones entre estos factores sí que identifica asociaciones significativas, lo que resalta la importancia de enfoques multifactoriales en el estudio de fenotipos complejos como es la psicosis (366).

La interacción encontrada para el gen *CNR1* y *CNR2* sugiere que ambos receptores del SEC podrían influir en la fisiopatología de la psicosis. En este contexto, la RMf se presenta como una herramienta poderosa para demostrar efectos más cercanos al sustrato neurobiológico, que a menudo permanecen ocultos cuando se utilizan métodos más tradicionales, como los test psicométricos (367,368), que representan fenotipos más distales. Este enfoque multimodal resulta particularmente relevante en estudios en psicosis de neuroimagen sobre la interacción entre genética y factores ambientales (369), ya que integra diferentes niveles de análisis para comprender mejor la complejidad del trastorno.

En cualquier caso, pese a haber detectado estos efectos interactivos para estos dos SNPs, es importante estar al tanto de que ambos representan una parte muy pequeña de toda la variabilidad genética que presenta un sujeto. En esta dirección,

desde el punto de vista de la interacción, Wainberg et al. (370) evaluaron la relación entre las experiencias psicóticas autoinformadas, el consumo de cannabis y las puntuaciones de PRS para esquizofrenia en participantes del biobanco del Reino Unido; encontraron que el 7% de los consumidores de cannabis informaron síntomas psicóticos en comparación con solo el 4,1% de los que nunca habían consumido cannabis. También descubrieron que los consumidores de cannabis con las puntuaciones más altas en la escala PRS para esquizofrenia tenían 1,58 veces más probabilidades de tener experiencias psicóticas autoinformadas en comparación con 1,39 veces más probabilidades en los consumidores con las puntuaciones más bajas.

Sin embargo, a pesar de identificar este mecanismo de interacción gen-ambiente, no podemos perder de vista que este mecanismo es muchas veces indisoluble del de correlación gen-ambiente. Es decir, la variabilidad genética no sólo modula la sensibilidad a los factores ambientales, sino que también modula la probabilidad de exponernos a ellos. Estudios epidemiológicos basados en familias y moleculares (192,371–375) respaldan que la variabilidad genética asociada a psicosis se relaciona también con el riesgo de consumo de cannabis. A pesar de no poder desligar interacción y correlación, en nuestros estudios hemos descartado efecto directo de los genotipos sobre la probabilidad de consumir ya que no había diferencias genotípicas entre ambos grupos de consumo de cannabis.

Con todo ello, esta tesis aporta evidencia sobre la relevancia de las interacciones entre la variabilidad genética de los receptores cannabinoides y el consumo de cannabis sobre la función cognitiva y sus correlatos neurobiológicos en los pacientes con PEP, en línea con estudios previos que han descrito cómo otros genes implicados en vías relevantes para el desarrollo de psicosis, como los sistemas de neurotransmisión dopaminérgico y serotoninérgico (incluidos *COMT*, *AKT1*, *DBH* y *5-HTT/SLC6A4*) pueden modular los efectos del cannabis sobre el rendimiento cognitivo (376) o sobre características de relevancia clínica como son la edad de debut o el tiempo de psicosis no tratada (87,377). Por tanto, dado que los genes del SEC también forman parte de la red genética y biológica que subyace a la psicosis, de manera convergente con los estudios comentados, nuestros resultados se sumarían a las evidencias de la modulación genética sobre los fenotipos en psicosis.

5.3. Puntos fuertes, limitaciones y direcciones futuras

Este estudio destaca, en primer lugar, por la relevancia de contar con una muestra de pacientes con PEPs, que permite analizar en una fase precoz de la enfermedad, antes de que factores como la cronicidad, el tratamiento prolongado o el deterioro cognitivo significativo influyan en los resultados (94,129,287,378,379). Aunque el diseño más adecuado para establecer relaciones temporales sería un diseño longitudinal prospectivo, esta muestra permite asumir una mayor fiabilidad a la hora de establecer la secuencia temporal entre el consumo de cannabis y el debut psicótico posterior que otras muestras con pacientes con un mayor tiempo de evolución.

En segundo lugar, en esta tesis, el análisis del impacto de los factores implicados en la psicosis se aborda no solo de forma independiente, sino también considerando la interacción entre ellos, lo que nos ofrece una perspectiva más integral de la realidad de este trastorno. Asimismo, resulta especialmente valioso emplear la técnica de RMf, que permite una aproximación más cercana a la neurobiología de estos trastornos, en este caso enfocándose en los fenotipos clínicos y cognitivos. En este sentido, cabe destacar la originalidad de la tesis ya que, hasta donde sabemos, no existen otros estudios que evalúen la interacción genética (*CNR1-CNR2*)-cannabis en fenotipos de actividad cerebral.

Respecto de las limitaciones del estudio, el tamaño de la muestra representa la principal limitación, ya que afecta al poder estadístico de los análisis estadísticos. Aunque estudios previos presentan muestras de tamaño similar, un aspecto esencial es el desarrollo de nuevos estudios en muestras más amplias.

Por otro lado, la evaluación del consumo de cannabis se realizó en base a la entrevista clínica con el participante y de manera dicotómica, como en múltiples estudios previos ((288,309,313,380–382)). Sin embargo, sería más adecuado evaluar la intensidad/grado de consumo de cannabis de manera más concreta (72,76,383) e implementar métodos objetivos de medición del mismo, como los basados en cuantificaciones en orina. Esto cobra mayor importancia en los últimos años, debido a la mayor variabilidad en el contenido de THC y CBD en diferentes productos. Además, el hecho de que en muchos otros estudios (no en nuestro caso) no se controle el uso

comórbido de otras sustancias dificulta la interpretación y comparación de los resultados. Finalmente, como previamente mencionado, el consumo durante determinados periodos de mayor vulnerabilidad del desarrollo tiene repercusiones más acusadas, por lo que sería interesante haber contado en nuestro estudio con dicha información a la hora de analizar los resultados y sacar conclusiones más rigurosas.

Otra limitación para tener en cuenta es que la evaluación cognitiva utilizada está restringida a algunas dimensiones cognitivas. Aunque se consideraron aspectos clave de la cognición medidos a través del WAIS, WMS o BADS, un enfoque más exhaustivo habría permitido evaluar áreas adicionales, como la velocidad de procesamiento, la atención, u otros componentes específicos de la memoria que se han visto afectados también en sujetos con trastornos psicóticos. Esto habría proporcionado una visión más holística del perfil cognitivo de los participantes, identificando posibles interacciones entre diversas capacidades cognitivas y factores clínicos. En relación con el protocolo de RMf, estuvo limitado a una única tarea de MT (el n-back), lo que podría restringir la aplicabilidad de los hallazgos a otras funciones cognitivas o tipos de tareas. Una aproximación más diversa, incorporando diferentes tareas cognitivas, habría facilitado un análisis más completo de la actividad cerebral, ofreciendo una visión más detallada de las redes neuronales implicadas y su interacción con las variables analizadas. Sin embargo, en relación con la RMf, la duración es un elemento altamente sensible para conseguir la participación y finalización de la tarea, de manera que la inclusión de diferentes tareas en una misma evaluación no siempre es de fácil consideración.

En cuanto la evaluación genética, esta se restringió únicamente a dos SNPs. Este enfoque no refleja la complejidad genética completa asociada a los fenómenos estudiados. Sin embargo, el tamaño de la muestra y la hipótesis dirigida de esta tesis, avalan la estrategia de gen-SNP candidato utilizada. En futuros estudios el análisis a más SNPs, o incluso utilizar enfoques genómicos más integrales, proporcionará una comprensión más profunda y robusta de los factores genéticos subyacentes. Un aspecto para tener en cuenta en relación con los análisis genéticos futuros es el origen población de los participantes. Los artículos de esta tesis incluyen solo muestras de origen europeo, lo que limita la generalización de los resultados a otras poblaciones.

Por tanto, nuevos estudios en diferentes poblaciones también pueden aportar información importante para la caracterización de los efectos genéticos.

Los endocannabinoides se han explorado como posibles objetivos terapéuticos y diagnósticos, destacando el CBD por su potencial antipsicótico y su capacidad para mitigar los efectos negativos del THC (384–386). A este respecto, con vistas a investigaciones futuras encuentro pertinente explorar el papel de los SNPs analizados en este trabajo en cuanto a este potencial efecto terapéutico del CBD. Aunque los estudios han mostrado resultados prometedores con el CBD y los antagonistas del receptor CB1, los mecanismos exactos de sus efectos antipsicóticos aún no se comprenden completamente (387), y se necesitan más investigaciones para identificar qué pacientes podrían beneficiarse de estas terapias.

Además, existen otros factores que han limitado las conclusiones de esta tesis. Por ejemplo, la ausencia de un grupo control de voluntarios sanos limita las comparaciones con la población general. En esta línea, una posible dirección futura para este trabajo sería profundizar en la exploración del papel de los genes en la manifestación de *psychotic-like experiences* (experiencias de tipo psicótico) y síntomas psiquiátricos menores en sujetos sanos, así como en la presentación de síntomas psicóticos en pacientes con alto riesgo de desarrollar enfermedad mental grave. Este enfoque permitiría identificar posibles mecanismos genéticos subyacentes que podrían influir tanto en la vulnerabilidad como en la manifestación de estas experiencias, proporcionando una comprensión más integral de los factores que median entre la salud mental y el riesgo psicopatológico.

Finalmente, si bien en nuestro estudio los grupos no difirieron en cuanto a la dosis equivalente de antipsicóticos utilizados, la posible influencia del uso de antipsicóticos en nuestros resultados es un factor para considerar. También, nuevas aproximaciones deberán evaluar las posibles diferencias sexuales, basándose en las diferencias en la presentación clínica entre hombres y mujeres además de en las diferencias neurobiológicas.

En resumen, los nuevos estudios deberían considerar que la identificación temprana de riesgos genéticos y ambientales es clave para diseñar programas

preventivos personalizados, especialmente en relación con el consumo de cannabis, así como para mejorar la detección precoz y la personalización de tratamientos. Dado que su legalización está en aumento y con ello el consumo, los profesionales de salud mental deben advertir sobre los riesgos asociados, especialmente para aquellos con predisposición genética.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

En conjunto, los resultados de los estudios recogidos en esta tesis permiten establecer las conclusiones que se enumeran a continuación.

En una muestra de personas con un primer episodio psicótico:

1. El consumo de cannabis tiene un efecto en la expresión de la psicosis, observándose una tendencia hacia una mayor severidad de los síntomas psicóticos positivos, así como una asociación con un mejor rendimiento cognitivo global.
2. Durante un protocolo de neuroimagen funcional, el consumo de cannabis no se relaciona con el desempeño de la tarea de memoria de trabajo (n-back) ni con la activación cerebral asociada a la ejecución de dicha tarea.
3. El polimorfismo rs1049353 del gen del receptor cannabinoide tipo 1 (*CNR1*) se asocia con la severidad de los síntomas psicóticos desorganizados, pero no con diferentes medidas cognitivas ni el grado de actividad cerebral en respuesta a una tarea de memoria de trabajo. El gen del receptor cannabinoide tipo 2 (*CNR2*) no se relaciona con las variables clínicas y cognitivas evaluadas.
4. El polimorfismo rs2501431 del gen *CNR2* modula el efecto del cannabis sobre las habilidades cognitivas-manipulativas, así como el desempeño de una tarea de memoria de trabajo.
5. Observamos un efecto diferencial del consumo de cannabis sobre la activación cerebral atendiendo a dos polimorfismos genéticos de *CNR1* y *CNR2*, durante la realización de una tarea de memoria de trabajo.
6. Estudios con cuantificaciones más precisas del consumo de cannabis, mayores tamaños muestrales y con un diseño prospectivo son necesarios para validar los hallazgos de la presente tesis.
7. Ahondar en abordajes multidisciplinarios, con aportes desde la clínica, la genética y la neuroimagen, para establecer los efectos del consumo de cannabis permitirá avanzar en el conocimiento de la etiología de la psicosis y también diseñar

intervenciones preventivas y terapéuticas personalizadas, que permitan reducir el desarrollo e impacto de los trastornos psicóticos.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sadock B, Sadock VA. Kaplan & Sadock. Sinopsis de psiquiatría. 10ª ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
2. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence, and Mortality. *Epidemiol Rev.* 2008 May 14;30(1):67–76.
3. Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a Disorder of Neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci.* 2002 Mar;25(1):409–32.
4. Weinberger DR. Implications of Normal Brain Development for the Pathogenesis of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 1987 Jul 1;44(7):660.
5. Murray RM, Lewis SW. Is schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *BMJ.* 1987 Sep 19;295(6600):681–2.
6. Rapoport JL, Giedd JN, Gogtay N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol Psychiatry.* 2012 Dec 10;17(12):1228–38.
7. Wadsworth M. Birth cohort studies. In: Armitage P, Colton T, editors. *Encyclopedia of Biostatistics*, 2nd edn. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2005.
8. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature.* 2014 Jul 22;511(7510):421–7.
9. Walter C, Oertel BG, Felden L, Nöth U, Vermehren J, Deichmann R, et al. Effects of oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol on the cerebral processing of olfactory input in healthy non-addicted subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 2017 Dec 2;73(12):1579–87.
10. Collin G, Keshavan MS. Connectome development and a novel extension to the neurodevelopmental model of schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci.* 2018 Jun 30;20(2):101–11.
11. Rincón-Cortés M, Grace AA. Sex-dependent emergence of prepubertal social dysfunction and augmented dopamine activity in a neurodevelopmental rodent model relevant for schizophrenia. *Schizophr Res.* 2023 Dec;262(November):32–9.
12. Chien Y-L, Lin H-Y, Tung Y-H, Hwang T-J, Chen C-L, Wu C-S, et al. Neurodevelopmental model of schizophrenia revisited: similarity in individual deviation and idiosyncrasy from the normative model of whole-brain white matter tracts and shared brain-cognition covariation with ADHD and ASD. *Mol Psychiatry.* 2022 Aug 6;27(8):3262–71.
13. Rund BR. The research evidence for schizophrenia as a neurodevelopmental disorder. *Scand J Psychol.* 2018 Feb 22;59(1):49–58.
14. Schmitt A, Falkai P, Papiol S. Neurodevelopmental disturbances in schizophrenia:

- evidence from genetic and environmental factors. *J Neural Transm.* 2023 Mar 12;130(3):195–205.
15. Walker EF, Diforio D. Schizophrenia: A neural diathesis-stress model. *Psychol Rev.* 1997;104(4):667–85.
 16. Zwir I, Arnedo J, Mesa A, Del Val C, de Erausquin GA, Cloninger CR. Temperament & Character account for brain functional connectivity at rest: A diathesis-stress model of functional dysregulation in psychosis. *Mol Psychiatry.* 2023 Jun 4;28(6):2238–53.
 17. Nevid JS, Rathus SA, Greene B. Contemporary Perspectives on Abnormal Behavior and Methods of Treatment. In: *Abnormal Psychology in a Changing World*. 11th ed. Hoboken, NJ: Pearson; 2021. p. 37–98.
 18. Ortuño F. Esquizofrenia. In: *Lecciones de Psiquiatría*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2009. p. 85–118.
 19. Van Os J, Kapur S. Schizophrenia. *Lancet (London, England).* 2009 Aug 22;374(9690):635–45.
 20. Kirkpatrick B, Fenton WS, Carpenter WT, Marder SR. The NIMH-MATRICES Consensus Statement on Negative Symptoms. *Schizophr Bull.* 2006 Apr 1;32(2):214–9.
 21. Mueser KT, McGurk SR. Schizophrenia. *Lancet.* 2004 Jun;363(9426):2063–72.
 22. Bowie CR, Harvey PD. Cognitive deficits and functional outcome in schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2006 Dec;2(4):531–6.
 23. Egan MF, Goldberg TE. Intermediate cognitive phenotypes associated with schizophrenia. *Methods Mol Med.* 2003;77:163–97.
 24. Kar SK, Jain M. Current understandings about cognition and the neurobiological correlates in schizophrenia. *J Neurosci Rural Pract.* 2016 Jul 25;07(03):412–8.
 25. Kahn RS, Keefe RSE. Schizophrenia Is a Cognitive Illness. *JAMA Psychiatry.* 2013 Oct 1;70(10):1107.
 26. Green MF, Harvey PD. Cognition in schizophrenia: Past, present, and future. *Schizophr Res Cogn.* 2014 Mar;1(1):e1–9.
 27. Sitskoorn MM, Aleman A, Ebisch SJH, Appels MCM, Kahn RS. Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res.* 2004 Dec;71(2–3):285–95.
 28. Besteher B, Brambilla P, Nenadić I. Twin studies of brain structure and cognition in schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020 Feb;109(December 2019):103–13.
 29. Touloupoulou T, Picchioni M, Rijdsdijk F, Hua-Hall M, Ettinger U, Sham P, et al. Substantial Genetic Overlap Between Neurocognition and Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2007 Dec 1;64(12):1348.

30. Owens SF, Rijdsdijk F, Picchioni MM, Stahl D, Nenadic I, Murray RM, et al. Genetic overlap between schizophrenia and selective components of executive function. *Schizophr Res*. 2011 Apr;127(1–3):181–7.
31. Harrow M. Do Patients with Schizophrenia Ever Show Periods of Recovery? A 15-Year Multi-Follow-up Study. *Schizophr Bull*. 2005 Jul 27;31(3):723–34.
32. Jablensky A. Course and outcome of schizophrenia and their prediction. In: *New Oxford Textbook of Psychiatry*. Oxford University Press Oxford; 2012. p. 569–78.
33. Ballageer T, Malla A, Manchanda R, Takhar J, Haricharan R. Is adolescent-onset first-episode psychosis different from adult onset? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2005 Aug;44(8):782–9.
34. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th ed. American Psychiatric Association; 2013.
35. Pascual JPC, Talavera GG, Vives JG. Primer episodio psicótico. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 2023 Oct;13(86):5057–68.
36. Suárez-Pinilla P, Suárez-Pinilla M, Setién-Suero E, Ortiz-García de la Foz V, Mayoral-Van Son J, Vázquez-Bourgon J, et al. Stability of schizophrenia diagnosis in a 10-year longitudinal study on first episode of non-affective psychosis: Conclusions from the PAFIP cohort. *Acta Psychiatr Scand*. 2021 Oct 21;144(4):342–57.
37. Heslin M, Lomas B, Lappin JM, Donoghue K, Reininghaus U, Onyejiaka A, et al. Diagnostic change 10 years after a first episode of psychosis. *Psychol Med*. 2015 Oct 4;45(13):2757–69.
38. López-Díaz Á, Ayesa-Arriola R, Ortiz-García de la Foz V, Suárez-Pinilla P, Ramírez-Bonilla ML, Vázquez-Bourgon J, et al. Predictors of diagnostic stability in brief psychotic disorders: Findings from a 3-year longitudinal study. *Acta Psychiatr Scand*. 2021 Dec 3;144(6):578–88.
39. Arendt M, Rosenberg R, Foldager L, Perto G, Munk-Jørgensen P. Cannabis-induced psychosis and subsequent schizophrenia-spectrum disorders: follow-up study of 535 incident cases. *Br J Psychiatry*. 2005 Dec 2;187(6):510–5.
40. Starzer MSK, Nordentoft M, Hjorthøj C. Rates and Predictors of Conversion to Schizophrenia or Bipolar Disorder Following Substance-Induced Psychosis. *Am J Psychiatry*. 2018 Apr 1;175(4):343–50.
41. Crebbin K, Mitford E, Paxton R, Turkington D. First-episode drug-induced psychosis: a medium term follow up study reveals a high-risk group. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2009 Sep 27;44(9):710–5.
42. Addington J, Van Mastrigt S, Addington D. Duration of untreated psychosis: impact on 2-year outcome. *Psychol Med*. 2004 Feb 26;34(2):277–84.
43. McGorry PD, Killackey E, Yung A. Early intervention in psychosis: concepts,

- evidence and future directions. *World Psychiatry*. 2008 Oct 12;7(3):148–56.
44. Mechoulam R. Marijuana Chemistry. *Science* (80-). 1970 Jun 5;168(3936):1159–66.
 45. Iversen LL. *The science of marijuana*. USA: Oxford University Press; 2001.
 46. World Health Organization. Cannabis [Internet]. Alcohol, Drugs and Addictive Behaviours Unit. 2022 [cited 2024 Oct 12]. Available from: <https://www.who.int/teams/mental-health-and-substance-use/alcohol-drugs-and-addictive-behaviours/drugs-psychoactive/cannabis>
 47. Hasin D, Hatzenbuehler ML, Keyes K, Ogburn E. Substance use disorders: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders , fourth edition (DSM-IV) and International Classification of Diseases , tenth edition (ICD-10). *Addiction*. 2006 Sep 8;101(s1):59–75.
 48. Compton WM, Han B, Jones CM, Blanco C, Hughes A. Marijuana use and use disorders in adults in the USA, 2002–14: analysis of annual cross-sectional surveys. *The Lancet Psychiatry*. 2016 Oct;3(10):954–64.
 49. Kilmer B. Recreational Cannabis — Minimizing the Health Risks from Legalization. *N Engl J Med*. 2017 Feb 23;376(8):705–7.
 50. Hall W, Lynskey M. Evaluating the public health impacts of legalizing recreational cannabis use in the United States. *Addiction*. 2016 Oct;111(10):1764–73.
 51. Brook JS, Lee JY, Finch SJ, Seltzer N, Brook DW. Adult Work Commitment, Financial Stability, and Social Environment as Related to Trajectories of Marijuana Use Beginning in Adolescence. *Subst Abus*. 2013 Jul 1;34(3):298–305.
 52. Volkow ND, Compton WM, Weiss SRB. Adverse Health Effects of Marijuana Use. *N Engl J Med*. 2014 Aug 28;371(9):878–9.
 53. Hasin DS, Sarvet AL, Cerdá M, Keyes KM, Stohl M, Galea S, et al. US Adult Illicit Cannabis Use, Cannabis Use Disorder, and Medical Marijuana Laws. *JAMA Psychiatry*. 2017 Jun 1;74(6):579.
 54. Hasin D, Walsh C. Cannabis Use, Cannabis Use Disorder, and Comorbid Psychiatric Illness: A Narrative Review. *J Clin Med*. 2020 Dec 23;10(1):15.
 55. Lachance A, Bélanger RE, Riva M, Ross NA. A Systematic Review and Narrative Synthesis of the Evolution of Adolescent and Young Adult Cannabis Consumption Before and After Legalization. *J Adolesc Heal*. 2022 Jun;70(6):848–63.
 56. Lowe DJE, Sasiadek JD, Coles AS, George TP. Cannabis and mental illness: a review. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2019 Feb 19;269(1):107–20.
 57. ElSohly MA, Mehmedic Z, Foster S, Gon C, Chandra S, Church JC. Changes in Cannabis Potency Over the Last 2 Decades (1995–2014): Analysis of Current Data in the United States. *Biol Psychiatry*. 2016 Apr;79(7):613–9.

58. Swift W, Wong A, Li KM, Arnold JC, McGregor IS. Analysis of Cannabis Seizures in NSW, Australia: Cannabis Potency and Cannabinoid Profile. Taffe M, editor. *PLoS One*. 2013 Jul 24;8(7):e70052.
59. Pijlman F, Rigter S, Hoek J, Goldschmidt H, Niesink R. Strong increase in total delta-THC in cannabis preparations sold in Dutch coffee shops. *Addict Biol*. 2005 Jun;10(2):171–80.
60. Andréasson S, Allebeck P, Engström A, Rydberg U. Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet (London, England)*. 1987 Dec 26;2(8574):1483–6.
61. Bechtold J, Hipwell A, Lewis DA, Loeber R, Pardini D. Concurrent and Sustained Cumulative Effects of Adolescent Marijuana Use on Subclinical Psychotic Symptoms. *Am J Psychiatry*. 2016 Aug 1;173(8):781–9.
62. Ferdinand RF, Sondeijker F, Van Der Ende J, Selten J, Huizink A, Verhulst FC. Cannabis use predicts future psychotic symptoms, and vice versa. *Addiction*. 2005 May 22;100(5):612–8.
63. Van Os J, Bak M, Hanssen M, Bijl R V., de Graaf R, Verdoux H. Cannabis use and psychosis: a longitudinal population-based study. *Am J Epidemiol*. 2002 Aug 15;156(4):319–27.
64. Zammit S. Self reported cannabis use as a risk factor for schizophrenia in Swedish conscripts of 1969: historical cohort study. *BMJ*. 2002 Nov 23;325(7374):1199–1199.
65. Arseneault L, Cannon M, Poulton R, Murray R, Caspi A, Moffitt TE. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ*. 2002 Nov 23;325(7374):1212–3.
66. Rognli EB, Berge J, Håkansson A, Bramness JG. Long-term risk factors for substance-induced and primary psychosis after release from prison. A longitudinal study of substance users. *Schizophr Res*. 2015 Oct;168(1–2):185–90.
67. Henquet C, Krabbendam L, Spauwen J, Kaplan C, Lieb R, Wittchen H-U, et al. Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *BMJ*. 2005 Jan 1;330(7481):11.
68. Manrique-Garcia E, Zammit S, Dalman C, Hemmingsson T, Andreasson S, Allebeck P. Cannabis, schizophrenia and other non-affective psychoses: 35 years of follow-up of a population-based cohort. *Psychol Med*. 2012 Jun 17;42(6):1321–8.
69. Fergusson DM, Horwood LJ, Swain-Campbell NR. Cannabis dependence and psychotic symptoms in young people. *Psychol Med*. 2003 Jan 11;33(1):15–21.
70. Gage SH, Hickman M, Heron J, Munafò MR, Lewis G, Macleod J, et al. Associations of cannabis and cigarette use with psychotic experiences at age 18: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Psychol Med*. 2014 Dec 10;44(16):3435–44.

71. Wiles NJ, Zammit S, Bebbington P, Singleton N, Meltzer H, Lewis G. Self-reported psychotic symptoms in the general population. *Br J Psychiatry*. 2006 Jun 2;188(6):519–26.
72. Marconi A, Di Forti M, Lewis CM, Murray RM, Vassos E. Meta-analysis of the Association Between the Level of Cannabis Use and Risk of Psychosis. *Schizophr Bull*. 2016 Sep;42(5):1262–9.
73. Henquet C. The Environment and Schizophrenia: The Role of Cannabis Use. *Schizophr Bull*. 2005 Jul 27;31(3):608–12.
74. Moore TH, Zammit S, Lingford-Hughes A, Barnes TR, Jones PB, Burke M, et al. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*. 2007 Jul;370(9584):319–28.
75. Semple DM, McIntosh AM, Lawrie SM. Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol*. 2005 Mar 1;19(2):187–94.
76. Di Forti M, Sallis H, Allegrì F, Trotta A, Ferraro L, Stilo SA, et al. Daily Use, Especially of High-Potency Cannabis, Drives the Earlier Onset of Psychosis in Cannabis Users. *Schizophr Bull*. 2014 Nov 1;40(6):1509–17.
77. Ortiz-Medina MB, Perea M, Torales J, Ventrìglio A, Vitrani G, Aguilar L, et al. Cannabis consumption and psychosis or schizophrenia development. *Int J Soc Psychiatry*. 2018 Nov 16;64(7):690–704.
78. Gage SH, Hickman M, Zammit S. Association Between Cannabis and Psychosis: Epidemiologic Evidence. *Biol Psychiatry*. 2016 Apr;79(7):549–56.
79. Sideli L, Quigley H, La Cascia C, Murray RM. Cannabis Use and the Risk for Psychosis and Affective Disorders. *J Dual Diagn*. 2020 Jan 2;16(1):22–42.
80. Renard J, Krebs M-O, Le Pen G, Jay TM. Long-term consequences of adolescent cannabinoid exposure in adult psychopathology. *Front Neurosci*. 2014 Nov 10;8(OCT):1–14.
81. Murray RM, Englund A, Abi-Dargham A, Lewis DA, Di Forti M, Davies C, et al. Cannabis-associated psychosis: Neural substrate and clinical impact. *Neuropharmacology*. 2017;124:89–104.
82. Fischer B, Hall W, Fidalgo TM, Hoch E, Foll B Le, Medina-Mora M-E, et al. Recommendations for Reducing the Risk of Cannabis Use-Related Adverse Psychosis Outcomes: A Public Mental Health-Oriented Evidence Review. *J Dual Diagn*. 2023 Jul 3;19(2–3):71–96.
83. Kiburi SK, Molebatsi K, Ntlantsana V, Lynskey MT. Cannabis use in Adolescence and Risk of Psychosis: Are there Factors that Moderate this Relationship? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Subst Abus*. 2021 Oct 1;42(4):527–42.
84. Myles H, Myles N, Large M. Cannabis use in first episode psychosis: Meta-analysis of prevalence, and the time course of initiation and continued use. *Aust New Zeal*

- J Psychiatry. 2016 Mar 18;50(3):208–19.
85. Radhakrishnan R, Wilkinson ST, D'Souza DC. Gone to Pot - A Review of the Association between Cannabis and Psychosis. *Front Psychiatry*. 2014 May 22;5(MAY):54.
 86. Rentero Martín D, Arias F, Sánchez-Romero S, Rubio G, Rodríguez-Jiménez R. Psicosis inducida por cannabis: características clínicas y su diferenciación con la esquizofrenia con y sin consumo de cannabis asociado. *Adicciones*. 2020 Jul 14;33(2):95.
 87. Estrada G, Fatjó-Vilas M, Muñoz MJ, Pulido G, Miñano MJ, Toledo E, et al. Cannabis use and age at onset of psychosis: further evidence of interaction with COMT Val158Met polymorphism. *Acta Psychiatr Scand*. 2011 Jun;123(6):485–92.
 88. Foti DJ, Kotov R, Guey LT, Bromet EJ. Cannabis Use and the Course of Schizophrenia: 10-Year Follow-Up After First Hospitalization. *Am J Psychiatry*. 2010 Aug 1;167(8):987–93.
 89. Foglia E, Schoeler T, Klamerus E, Morgan K, Bhattacharyya S. Cannabis use and adherence to antipsychotic medication: a systematic review and meta-analysis. *Psychol Med*. 2017 Jul 9;47(10):1691–705.
 90. Colizzi M, Carra E, Fraietta S, Lally J, Quattrone D, Bonaccorso S, et al. Substance use, medication adherence and outcome one year following a first episode of psychosis. *Schizophr Res*. 2016 Feb;170(2–3):311–7.
 91. Zammit S, Moore THM, Lingford-Hughes A, Barnes TRE, Jones PB, Burke M, et al. Effects of cannabis use on outcomes of psychotic disorders: Systematic review. *Br J Psychiatry*. 2008;193(5):357–63.
 92. Solmi M, De Toffol M, Kim JY, Choi MJ, Stubbs B, Thompson T, et al. Balancing risks and benefits of cannabis use: umbrella review of meta-analyses of randomised controlled trials and observational studies. *BMJ*. 2023 Aug 30;61:e072348.
 93. Schoeler T, Monk A, Sami MB, Klamerus E, Foglia E, Brown R, et al. Continued versus discontinued cannabis use in patients with psychosis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*. 2016 Mar 1;3(3):215–25.
 94. Setién-Suero E, Neergaard K, Ortiz-García de la Foz V, Suárez-Pinilla P, Martínez-García O, Crespo-Facorro B, et al. Stopping cannabis use benefits outcome in psychosis: findings from 10-year follow-up study in the PAFIP-cohort. *Acta Psychiatr Scand*. 2019 Oct 18;140(4):349–59.
 95. Lu H-C, Mackie K. Review of the Endocannabinoid System. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2021 Jun;6(6):607–15.
 96. Wolf S, Tauber S, Ullrich O. CNS Immune Surveillance and Neuroinflammation: Endocannabinoids Keep Control. *Curr Pharm Des*. 2008 Aug 1;14(23):2266–78.

97. Bielawski T, Albrechet-Souza L, Frydecka D. Endocannabinoid system in trauma and psychosis: distant guardian of mental stability. *Rev Neurosci*. 2021 Nov 25;32(7):707–22.
98. Katona I, Freund TF. Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nat Med*. 2008 Sep 5;14(9):923–30.
99. Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain*. 2003 Jun 1;126(6):1252–70.
100. Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*. 1997 Aug 21;388(6644):773–8.
101. Di Marzo V, De Petrocellis L. Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand? *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2012 Dec 5;367(1607):3216–28.
102. Melis M, Muntoni AL, Pistis M. Endocannabinoids and the Processing of Value-Related Signals. *Front Pharmacol*. 2012;3(February):1–7.
103. Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid Signaling in the Brain. *Science (80-)*. 2002 Apr 26;296(5568):678–82.
104. Fernández-Ruiz J, Hernández M, Ramos JA. Cannabinoid–Dopamine Interaction in the Pathophysiology and Treatment of CNS Disorders. *CNS Neurosci Ther*. 2010 Jun 6;16(3):72–91.
105. Alger BE. Getting high on the endocannabinoid system. *Cerebrum*. 2013 Nov;2013(November):14.
106. Herkenham M, Lynn A, Johnson M, Melvin L, de Costa B, Rice K. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*. 1991 Feb 1;11(2):563–83.
107. Bodor ÁL, Katona I, Nyíri G, Mackie K, Ledent C, Hájos N, et al. Endocannabinoid Signaling in Rat Somatosensory Cortex: Laminar Differences and Involvement of Specific Interneuron Types. *J Neurosci*. 2005 Jul 20;25(29):6845–56.
108. Galiègue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carrière D, Carayon P, et al. Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *Eur J Biochem*. 1995 Aug 3;232(1):54–61.
109. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993 Sep;365(6441):61–5.
110. Scheller A, Kirchhoff F. Endocannabinoids and Heterogeneity of Glial Cells in Brain Function. *Front Integr Neurosci*. 2016 Jul 5;10(JULY2016):1–6.
111. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong J-P, Patel S, Perchuk A, Meozzi PA, et al. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Aug 6;1074(1):514–36.
112. Liu Q -R., Pan C -H., Hishimoto A, Li C -Y., Xi Z -X., Llorente-Berzal A, et al. Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): identification of novel human

- and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes, Brain Behav.* 2009 Jul 15;8(5):519–30.
113. Chen D, Gao M, Gao F, Su Q, Wu J. Brain cannabinoid receptor 2: expression, function and modulation. *Acta Pharmacol Sin.* 2017 Mar 9;38(3):312–6.
 114. Yin A, Wang F, Zhang X. Integrating endocannabinoid signaling in the regulation of anxiety and depression. *Acta Pharmacol Sin.* 2019 Mar 12;40(3):336–41.
 115. Almeida V, Levin R, Peres FF, Suiama 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 Sep;155(October 2018):44–53.
 116. Fakhoury M. Role of the Endocannabinoid System in the Pathophysiology of Schizophrenia. *Mol Neurobiol.* 2017 Jan 15;54(1):768–78.
 117. Garani R, Watts JJ, Mizrahi R. Endocannabinoid system in psychotic and mood disorders, a review of human studies. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2021 Mar;106:110096.
 118. Rubino T, Parolaro D. The Impact of Exposure to Cannabinoids in Adolescence: Insights From Animal Models. *Biol Psychiatry.* 2016 Apr;79(7):578–85.
 119. Howes OD, Kapur S. The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III--The Final Common Pathway. *Schizophr Bull.* 2009 Mar 30;35(3):549–62.
 120. Mayeli A, Sonnenschein SF, Yushmanov VE, Wilson JD, Blazer A, Foran W, et al. Dorsolateral Prefrontal Cortex Glutamate/Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Alterations in Clinical High Risk and First-Episode Schizophrenia: A Preliminary 7-T Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging Study. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 13;23(24):15846.
 121. Zahid U, Onwordi EC, Hedges EP, Wall MB, Modinos G, Murray RM, et al. Neurofunctional correlates of glutamate and GABA imbalance in psychosis: A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2023 Jan;144(December 2022):105010.
 122. Covey DP, Mateo Y, Sulzer D, Cheer JF, Lovinger DM. Endocannabinoid modulation of dopamine neurotransmission. *Neuropharmacology.* 2017 Sep;124:52–61.
 123. Kuepper R, Morrison PD, van Os J, Murray RM, Kenis G, Henquet C. Does dopamine mediate the psychosis-inducing effects of cannabis? A review and integration of findings across disciplines. *Schizophr Res.* 2010 Aug;121(1–3):107–17.
 124. Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D. The Endocannabinoid System and Schizophrenia: Integration of Evidence. *Curr Pharm Des.* 2012 Sep 12;18(32):4980–90.

125. 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 Health Dis.* 2003 Aug 19;2:5.
126. Koethe D, Giuffrida A, Schreiber D, Hellmich M, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S, et al. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br J Psychiatry.* 2009 Apr 2;194(4):371–2.
127. Potvin S, Kouassi É, Lipp O, Bouchard R-H, Roy M-A, Demers M-F, et al. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol.* 2008 May 28;22(3):262–9.
128. Wang D, Sun X, Yan J, Ren B, Cao B, Lu Q, et al. Alterations of eicosanoids and related mediators in patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2018 Jul;102(38):168–78.
129. Bioque M, García-Bueno B, MacDowell KS, Meseguer A, Saiz PA, Parellada M, et al. Peripheral Endocannabinoid System Dysregulation in First-Episode Psychosis. *Neuropsychopharmacology.* 2013 Dec 4;38(13):2568–77.
130. Chase KA, Feiner B, Rosen C, Gavin DP, Sharma RP. Characterization of peripheral cannabinoid receptor expression and clinical correlates in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2016 Nov 30;245:346–53.
131. D’Addario C, Micale V, Di Bartolomeo M, Stark T, Pucci M, Sulcova A, et al. A preliminary study of endocannabinoid system regulation in psychosis: Distinct alterations of CNR1 promoter DNA methylation in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2017 Oct 1;188:132–40.
132. Moretti PN, Ota VK, Gouvea ES, Pedrini M, Santoro ML, Talarico F, et al. Accessing Gene Expression in Treatment-Resistant Schizophrenia. *Mol Neurobiol.* 2018 Aug 26;55(8):7000–8.
133. Eggan SM, Stoyak SR, Verrico CD, Lewis DA. Cannabinoid CB1 Receptor Immunoreactivity in the Prefrontal Cortex: Comparison of Schizophrenia and Major Depressive Disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2010 Sep 16;35(10):2060–71.
134. Dean B, Sundram S, Bradbury R, Scarr E, Copolov D. Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience.* 2001 Feb;103(1):9–15.
135. 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 Oct;79:304–12.
136. 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 Oct;52(4):1505–13.
137. Borgan F, Laurikainen H, Veronese M, Marques TR, Haaparanta-Solin M, Solin O, et al. In Vivo Availability of Cannabinoid 1 Receptor Levels in Patients With First-Episode Psychosis. *JAMA Psychiatry*. 2019 Oct 1;76(10):1074.
 138. Ranganathan M, Cortes-Briones J, Radhakrishnan R, Thurnauer H, Planeta B, Skosnik P, et al. Reduced Brain Cannabinoid Receptor Availability in Schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2016 Jun;79(12):997–1005.
 139. Eggan SM, Hashimoto T, Lewis DA. Reduced Cortical Cannabinoid 1 Receptor Messenger RNA and Protein Expression in Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2008 Jul 7;65(7):772.
 140. Urigüen L, García-Fuster MJ, Callado LF, Morentin B, La Harpe R, Casadó V, et al. Immunodensity and mRNA expression of A2A adenosine, D2 dopamine, and CB1 cannabinoid receptors in postmortem frontal cortex of subjects with schizophrenia: effect of antipsychotic treatment. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009 Oct 4;206(2):313–24.
 141. Ibarra-Lecue I, Pilar-Cuéllar F, Muguruza C, Florensa-Zanuy E, Díaz Á, Urigüen L, et al. The endocannabinoid system in mental disorders: Evidence from human brain studies. *Biochem Pharmacol*. 2018 Nov;157:97–107.
 142. Ranganathan M, Skosnik PD, D'Souza DC. Marijuana and Madness: Associations Between Cannabinoids and Psychosis. *Biol Psychiatry*. 2016 Apr;79(7):511–3.
 143. Volk DW, Eggan SM, Horti AG, Wong DF, Lewis DA. Reciprocal alterations in cortical cannabinoid receptor 1 binding relative to protein immunoreactivity and transcript levels in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2014 Oct 1;159(1):124–9.
 144. Jenko KJ, Hirvonen J, Henter ID, Anderson KB, Zoghbi SS, Hyde TM, et al. Binding of a tritiated inverse agonist to cannabinoid CB1 receptors is increased in patients with schizophrenia. *Schizophr Res*. 2012 Nov;141(2–3):185–8.
 145. Dalton VS, Long LE, Weickert CS, Zavitsanou K. Paranoid Schizophrenia is Characterized by Increased CB1 Receptor Binding in the Dorsolateral Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2011 Jul 6;36(8):1620–30.
 146. Deng C, Han M, Huang X-F. No changes in densities of cannabinoid receptors in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *Neurosci Bull*. 2007 Nov 3;23(6):341–7.
 147. Newell KA, Deng C, Huang X-F. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp Brain Res*. 2006 Jul 19;172(4):556–60.
 148. Zavitsanou K, Garrick T, Huang XF. Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2004 Mar;28(2):355–60.

149. Koethe D, Llenos IC, Dulay JR, Hoyer C, Torrey EF, Leweke FM, et al. Expression of CB1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *J Neural Transm.* 2007 Aug 19;114(8):1055–63.
150. Ishiguro H, Carpio O, Horiuchi Y, Shu A, Higuchi S, Schanz N, et al. A nonsynonymous polymorphism in cannabinoid CB2 receptor gene is associated with eating disorders in humans and food intake is modified in mice by its ligands. *Synapse.* 2010 Jan;64(1):92–6.
151. Volk DW, Siegel BI, Verrico CD, Lewis DA. Endocannabinoid metabolism in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2013 Jun;147(1):53–7.
152. Volk DW, Eggan SM, Lewis DA. Alterations in Metabotropic Glutamate Receptor 1 α and Regulator of G Protein Signaling 4 in the Prefrontal Cortex in Schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2010 Dec;167(12):1489–98.
153. Hilker R, Helenius D, Fagerlund B, Skytté A, Christensen K, Werge TM, et al. Heritability of Schizophrenia and Schizophrenia Spectrum Based on the Nationwide Danish Twin Register. *Biol Psychiatry.* 2018 Mar;83(6):492–8.
154. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a Complex Trait. *Arch Gen Psychiatry.* 2003 Dec 1;60(12):1187.
155. Kringlen E. Twin studies in schizophrenia with special emphasis on concordance figures. *Am J Med Genet.* 2000;97(1):4–11.
156. Cannon TD, Kaprio J, Lönqvist J, Huttunen M, Koskenvuo M. The Genetic Epidemiology of Schizophrenia in a Finnish Twin Cohort. *Arch Gen Psychiatry.* 1998 Jan 1;55(1):67.
157. Gottesman II, Laursen TM, Bertelsen A, Mortensen PB. Severe Mental Disorders in Offspring With 2 Psychiatrically Ill Parents. *Arch Gen Psychiatry.* 2010 Mar 1;67(3):252.
158. Lichtenstein P, Yip BH, Björk C, Pawitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, et al. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet.* 2009 Jan;373(9659):234–9.
159. Gottesman II. Schizophrenia genesis: the origins of madness. New York: W.H. Freeman & Co; 1991.
160. Cardno AG, Gottesman II. Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet.* 2000;97(1):12–7.
161. Farmer AE. Twin Concordance for DSM-III Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 1987 Jul 1;44(7):634.
162. Lichtenstein P, Björk C, Hultman CM, Scolnick E, Sklar P, Sullivan PF. Recurrence risks for schizophrenia in a Swedish national cohort. *Psychol Med.* 2006 Oct

- 25;36(10):1417–25.
163. Hopfer CJ, Young SE, Purcell S, Crowley TJ, Stallings MC, Corley RP, et al. Cannabis receptor haplotype associated with fewer cannabis dependence symptoms in adolescents. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet.* 2006 Dec 5;141B(8):895–901.
 164. Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* 2009 Aug 1;460(7256):748–52.
 165. Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kähler AK, Akterin S, et al. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet.* 2013 Oct 25;45(10):1150–9.
 166. Loh P-R, Bhatia G, Gusev A, Finucane HK, Bulik-Sullivan BK, Pollack SJ, et al. Contrasting genetic architectures of schizophrenia and other complex diseases using fast variance-components analysis. *Nat Genet.* 2015 Dec 2;47(12):1385–92.
 167. Trubetskoy V, Pardiñas AF, Qi T, Panagiotaropoulou G, Awasthi S, Bigdeli TB, et al. Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia. *Nature.* 2022 Apr 21;604(7906):502–8.
 168. Guardiola-Ripoll M, Almodóvar-Payá C, Lubeiro A, Sotero A, Salvador R, Fuentes-Claramonte P, et al. A functional neuroimaging association study on the interplay between two schizophrenia genome-wide associated genes (CACNA1C and ZNF804A). *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2022 Oct 7;272(7):1229–39.
 169. Almodóvar-Payá C, Guardiola-Ripoll M, Giralte-López M, Oscoz-Irurozqui M, Canales-Rodríguez EJ, Madre M, et al. NRN1 epistasis with BDNF and CACNA1C: mediation effects on symptom severity through neuroanatomical changes in schizophrenia. *Brain Struct Funct.* 2024 May 9;229(5):1299–315.
 170. Mackay TFC, Moore JH. Why epistasis is important for tackling complex human disease genetics. *Genome Med.* 2014 Jun 9;6(6):42.
 171. Woo HJ, Yu C, Kumar K, Reifman J. Large-scale interaction effects reveal missing heritability in schizophrenia, bipolar disorder and posttraumatic stress disorder. *Transl Psychiatry.* 2017 Apr 11;7(4):e1089–e1089.
 172. Hall J, Trent S, Thomas KL, O'Donovan MC, Owen MJ. Genetic Risk for Schizophrenia: Convergence on Synaptic Pathways Involved in Plasticity. *Biol Psychiatry.* 2015 Jan;77(1):52–8.
 173. Pardiñas AF, Holmans P, Pocklington AJ, Escott-Price V, Ripke S, Carrera N, et al. Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nat Genet.* 2018 Mar 26;50(3):381–9.
 174. Calafato MS, Thygesen JH, Ranlund S, Zartaloudi E, Cahn W, Crespo-Facorro B, et al. Use of schizophrenia and bipolar disorder polygenic risk scores to identify

- psychotic disorders. *Br J Psychiatry*. 2018 Sep 16;213(3):535–41.
175. Vassos E, Sham P, Kempton M, Trotta A, Stilo SA, Gayer-Anderson C, et al. The Maudsley environmental risk score for psychosis. *Psychol Med*. 2020 Oct 19;50(13):2213–20.
 176. Wahbeh MH, Avramopoulos D. Gene-Environment Interactions in Schizophrenia: A Literature Review. *Genes (Basel)*. 2021 Nov 23;12(12):1850.
 177. Valli I, Gonzalez Segura A, Verdolini N, Garcia-Rizo C, Berge D, Baeza I, et al. Obstetric complications and genetic risk for schizophrenia: Differential role of antenatal and perinatal events in first episode psychosis. *Acta Psychiatr Scand*. 2023 Jul 4;148(1):81–90.
 178. Agerbo E, Sullivan PF, Vilhjálmsón BJ, Pedersen CB, Mors O, Børglum AD, et al. Polygenic Risk Score, Parental Socioeconomic Status, Family History of Psychiatric Disorders, and the Risk for Schizophrenia. *JAMA Psychiatry*. 2015 Jul 1;72(7):635.
 179. Ruderfer DM, Kirov G, Chambert K, Moran JL, Owen MJ, O'Donovan MC, et al. A family-based study of common polygenic variation and risk of schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2011 Sep 12;16(9):887–8.
 180. Malhotra D, Sebat J. CNVs: Harbingers of a Rare Variant Revolution in Psychiatric Genetics. *Cell*. 2012 Mar;148(6):1223–41.
 181. Singh T, Neale BM, Daly MJ. Exome sequencing identifies rare coding variants in 10 genes which confer substantial risk for schizophrenia. *medRxiv*. 2020. p. 2020.09.18.20192815.
 182. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*. 2013 Apr 20;381(9875):1371–9.
 183. van Winkel R, Kuepper R. Epidemiological, Neurobiological, and Genetic Clues to the Mechanisms Linking Cannabis Use to Risk for Nonaffective Psychosis. *Annu Rev Clin Psychol*. 2014 Mar 28;10(1):767–91.
 184. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the Effect of Adolescent-Onset Cannabis Use on Adult Psychosis by a Functional Polymorphism in the Catechol-O-Methyltransferase Gene: Longitudinal Evidence of a Gene X Environment Interaction. *Biol Psychiatry*. 2005 May;57(10):1117–27.
 185. Loureiro CM, Corsi-Zuelli F, Fachim HA, Shuhama R, de Oliveira AM, Menezes PR, et al. Lifetime cannabis use and childhood trauma increase risk of psychosis in carriers of CNR1 genetic variants: findings from the STREAM study. *Brazilian J Psychiatry*. 2023;45(3):226–35.
 186. Zammit S, Spurlock G, Williams H, Norton N, Williams N, O'Donovan MC, et al. Genotype effects of CHRNA7, CNR1 and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and cannabis use. *Br J Psychiatry*. 2007 Nov 2;191(5):402–7.

187. Di Forti M, Iyegbe C, Sallis H, Kolliakou A, Falcone MA, Paparelli A, et al. Confirmation that the AKT1 (rs2494732) Genotype Influences the Risk of Psychosis in Cannabis Users. *Biol Psychiatry*. 2012 Nov 15;72(10):811–6.
188. Hill M. Perspective: Be clear about the real risks. *Nature*. 2015 Sep 23;525(7570):S14–S14.
189. Ksir C, Hart CL. Correlation still does not imply causation. *The Lancet Psychiatry*. 2016 May;3(5):401.
190. Ksir C, Hart CL. Cannabis and Psychosis: a Critical Overview of the Relationship. *Curr Psychiatry Rep*. 2016 Feb 19;18(2):12.
191. Verweij KJH, Zietsch BP, Lynskey MT, Medland SE, Neale MC, Martin NG, et al. Genetic and environmental influences on cannabis use initiation and problematic use: a meta-analysis of twin studies. *Addiction*. 2010 Mar 5;105(3):417–30.
192. Power RA, Verweij KJH, Zuhair M, Montgomery GW, Henders AK, Heath AC, et al. Genetic predisposition to schizophrenia associated with increased use of cannabis. *Mol Psychiatry*. 2014 Nov 24;19(11):1201–4.
193. Ujike H, Takaki M, Nakata K, Tanaka Y, Takeda T, Kodama M, et al. CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2002 Jun 1;7(5):515–8.
194. Gouvêa ES, Santos Filho AF, Ota VK, Mrad V, Gadelha A, Bressan RA, et al. The role of the CNR1 gene in schizophrenia: a systematic review including unpublished data. *Rev Bras Psiquiatr*. 2017 Jan 12;39(2):160–71.
195. Dawson E. Identification of a highly polymorphic triplet repeat marker for the brain cannabinoid receptor gene: Use in linkage and association studies of schizophrenia. *Schizophr Res*. 1995 Apr;15(1–2):37.
196. Bae JS eo., Kim JY, Park B-L, Kim J-H, Kim B, Park CS o., et al. Genetic association analysis of CNR1 and CNR2 polymorphisms with schizophrenia in a Korean population. *Psychiatr Genet*. 2014 Oct 1;24(5):225–9.
197. Ballon N, Leroy S, Roy C, Bourdel MC, Charles-Nicolas A, Krebs MO, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene (CNR1): association with cocaine addiction in an African-Caribbean population. *Pharmacogenomics J*. 2006;6(2):126–30.
198. Martínez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero MA, Pérez-Hernandez E, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene, CNR1: association with schizophrenia in a Spanish population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2006 Oct 20;256(7):437–41.
199. Seifert J, Ossege S, Emrich HM, Schneider U, Stuhmann M. No association of CNR1 gene variations with susceptibility to schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2007 Oct 9;426(1):29–33.

200. Tsai S-J, Wang Y-C, Hong C-J. Association study of a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 2000 Sep;10(3):149–51.
201. Hamdani N, Tabeze J-P, Ramoz N, Ades J, Hamon M, Sarfati Y, et al. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008 Jan;18(1):34–40.
202. Dinu IR, Popa S, Bîcu M, Moța E, Moța M. The implication of CNR1 gene's polymorphisms in the modulation of endocannabinoid system effects. *Rom J Intern Med*. 2009;47(1):9–18.
203. 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*. 2010 May 27;35(6):1315–24.
204. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Voineskos AN, Meltzer HY, Lieberman JA, et al. Association study of Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene in tardive dyskinesia. *Pharmacogenomics J*. 2012 Jun 25;12(3):260–6.
205. Agrawal A, Wetherill L, Dick DM, Xuei X, Hinrichs A, Hesselbrock V, et al. Evidence for association between polymorphisms in the cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene and cannabis dependence. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2009 Jul 5;150B(5):736–40.
206. Hartman CA, Hopfer CJ, Haberstick B, Rhee SH, Crowley TJ, Corley RP, et al. The association between cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and cannabis dependence symptoms in adolescents and young adults. *Drug Alcohol Depend*. 2009 Sep 1;104(1–2):11–6.
207. Herman AI, Kranzler HR, Cubells JF, Gelernter J, Covault J. Association study of the CNR1 gene exon 3 alternative promoter region polymorphisms and substance dependence. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2006 Jul 5;141B(5):499–503.
208. Verweij KJH, Zietsch BP, Liu JZ, Medland SE, Lynskey MT, Madden PAF, et al. No association of candidate genes with cannabis use in a large sample of Australian twin families. *Addict Biol*. 2012 May 20;17(3):687–90.
209. Altun B, Cok I, Noyan CO, Kadioglu E, Cetin A, Sengezer T, et al. Assessment of the effects of CNR1, FAAH and MGLL gene variations on the synthetic cannabinoid use disorder. *Turkish J Biochem*. 2023 Jul 19;48(3):282–9.
210. Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, et al. Brain Cannabinoid CB2 Receptor in Schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2010 May 15;67(10):974–82.
211. Tong D, He S, Wang L, Jin L, Si P, Cheng X. Association of Single-Nucleotide Polymorphisms in the Cannabinoid Receptor 2 Gene with Schizophrenia in the Han Chinese Population. *J Mol Neurosci*. 2013 Oct 12;51(2):454–60.

212. Zhang H, Gao M, Liu Q, Bi G, Li X, Yang H, et al. Cannabinoid CB 2 receptors modulate midbrain dopamine neuronal activity and dopamine-related behavior in mice. *Proc Natl Acad Sci*. 2014 Nov 18;111(46).
213. Navarrete F, García-Gutiérrez MS, Gasparyan A, Navarro D, Manzanares J. CB2 Receptor Involvement in the Treatment of Substance Use Disorders. *Biomolecules*. 2021 Oct 20;11(11):1556.
214. Onaivi ES, Ishiguro H, Sgro S, Leonard CM. Cannabinoid Receptor Gene Variations in Drug Addiction and Neuropsychiatric Disorders. *J Drug Alcohol Res*. 2013;2:1–11.
215. Kurnaz S, Yazici AB, Nursal AF, Cetinay Aydin P, Ongel Atar A, Aydin N, et al. CNR2 rs2229579 and COMT Val158Met variants, but not CNR2 rs2501432, IL-17 rs763780 and UCP2 rs659366, contribute to susceptibility to substance use disorder in the Turkish population. *Psychiatry Clin Psychopharmacol*. 2019 Oct 2;29(4):847–53.
216. Ishiguro H, Iwasaki S, Teasenfitz L, Higuchi S, Horiuchi Y, Saito T, et al. Involvement of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *Pharmacogenomics J*. 2007 Dec 1;7(6):380–5.
217. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988 Nov;34(5):605–13.
218. Bloomfield MAP, Morgan CJA, Egerton A, Kapur S, Curran HV, Howes OD. Dopaminergic Function in Cannabis Users and Its Relationship to Cannabis-Induced Psychotic Symptoms. *Biol Psychiatry*. 2014 Mar;75(6):470–8.
219. Van de Giessen E, Weinstein JJ, Cassidy CM, Haney M, Dong Z, Ghazzaoui R, et al. Deficits in striatal dopamine release in cannabis dependence. *Mol Psychiatry*. 2017 Jan 22;22(1):68–75.
220. Tanda G, Pontieri FE, Chiara G Di. Cannabinoid and Heroin Activation of Mesolimbic Dopamine Transmission by a Common μ 1 Opioid Receptor Mechanism. *Science* (80-). 1997 Jun 27;276(5321):2048–50.
221. French ED, Dillon K, Wu X. Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra. *Neuroreport*. 1997 Feb;8(3):649–52.
222. Chen J, Paredes W, Lowinson JH, Gardner EL. Delta 9-tetrahydrocannabinol enhances presynaptic dopamine efflux in medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol*. 1990 Nov 6;190(1–2):259–62.
223. Pistis M, Ferraro L, Pira L, Flore G, Tanganelli S, Gessa GL, et al. Δ 9-Tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Res*. 2002 Sep;948(1–2):155–8.
224. Chen J, Paredes W, Lowinson JH, Gardner EL. Strain-specific facilitation of

- dopamine efflux by Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the nucleus accumbens of rat: An in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett*. 1991 Aug;129(1):136–40.
225. Melis M, Carta S, Fattore L, Tolu S, Yasar S, Goldberg SR, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors- α modulate dopamine cell activity through nicotinic receptors. *Biol Psychiatry*. 2010;68(3):256–64.
 226. D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu Y, et al. The Psychotomimetic Effects of Intravenous Delta-9-Tetrahydrocannabinol in Healthy Individuals: Implications for Psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Aug 2;29(8):1558–72.
 227. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*. 1999 Jun;10(8):1665–9.
 228. Freeman D, Dunn G, Murray RM, Evans N, Lister R, Antley A, et al. How Cannabis Causes Paranoia: Using the Intravenous Administration of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) to Identify Key Cognitive Mechanisms Leading to Paranoia. *Schizophr Bull*. 2015 Mar;41(2):391–9.
 229. Koethe D, Gerth CW, Neatby MA, Haensel A, Thies M, Schneider U, et al. Disturbances of visual information processing in early states of psychosis and experimental delta-9-tetrahydrocannabinol altered states of consciousness. *Schizophr Res*. 2006 Dec;88(1–3):142–50.
 230. Hindley G, Beck K, Borgan F, Ginestet CE, McCutcheon R, Kleinloog D, et al. Psychiatric symptoms caused by cannabis constituents: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*. 2020 Apr;7(4):344–53.
 231. Ganesh S, Cortes-Briones J, Ranganathan M, Radhakrishnan R, Skosnik PD, D'Souza DC. Psychosis-Relevant Effects of Intravenous Delta-9-Tetrahydrocannabinol: A Mega Analysis of Individual Participant-Data from Human Laboratory Studies. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2020 Dec 3;23(9):559–70.
 232. D'Souza DC, Ranganathan M, Braley G, Gueorguieva R, Zimolo Z, Cooper T, et al. Blunted Psychotomimetic and Amnestic Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in Frequent Users of Cannabis. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Sep 9;33(10):2505–16.
 233. Bhattacharyya S, Fusar-Poli P, Borgwardt S, Martin-Santos R, Nosarti C, O'Carroll C, et al. Modulation of Mediotemporal and Ventrostriatal Function in Humans by Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *Arch Gen Psychiatry*. 2009 Apr 1;66(4):442.
 234. Bhattacharyya S, Atakan Z, Martin-Santos R, Crippa JA, Kambeitz J, Prata D, et al. Preliminary report of biological basis of sensitivity to the effects of cannabis on psychosis: AKT1 and DAT1 genotype modulates the effects of δ^9 -tetrahydrocannabinol on midbrain and striatal function. *Mol Psychiatry*. 2012 Dec 31;17(12):1152–5.
 235. Bhattacharyya S, Crippa JA, Allen P, Martin-Santos R, Borgwardt S, Fusar-Poli P, et

- al. Induction of psychosis by Δ^9 -tetrahydrocannabinol reflects modulation of prefrontal and striatal function during attentional salience processing. *Arch Gen Psychiatry*. 2012 Jan;69(1):27–36.
236. Brunette MF, Roth RM, Trask C, Khokhar JY, Ford JC, Park SH, et al. Randomized Laboratory Study of Single-Dose Cannabis, Dronabinol, and Placebo in Patients With Schizophrenia and Cannabis Use Disorder. *Schizophr Bull*. 2024 Jun 20;1–14.
 237. Whitfield-Gabrieli S, Fischer AS, Henricks AM, Khokhar JY, Roth RM, Brunette MF, et al. Understanding marijuana's effects on functional connectivity of the default mode network in patients with schizophrenia and co-occurring cannabis use disorder: A pilot investigation. *Schizophr Res*. 2018 Apr;194:70–7.
 238. Degenhardt L, Tennant C, Gilmour S, Schofield D, Nash L, Hall W, et al. The temporal dynamics of relationships between cannabis, psychosis and depression among young adults with psychotic disorders: findings from a 10-month prospective study. *Psychol Med*. 2007 Jul 9;37(7):927–34.
 239. Baeza I, Graell M, Moreno D, Castro-Fornieles J, Parellada M, González-Pinto A, et al. Cannabis use in children and adolescents with first episode psychosis: influence on psychopathology and short-term outcome (CAFEPS study). *Schizophr Res*. 2009 Sep;113(2–3):129–37.
 240. Hides L, Dawe S, Kavanagh DJ, Young RM. Psychotic symptom and cannabis relapse in recent-onset psychosis. *Br J Psychiatry*. 2006 Aug 2;189(2):137–43.
 241. Linszen DH. Cannabis Abuse and the Course of Recent-Onset Schizophrenic Disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 1994 Apr 1;51(4):273.
 242. Sorbara F, Liraud F, Assens F, Abalan F, Verdoux H. Substance use and the course of early psychosis: a 2-year follow-up of first-admitted subjects. *Eur Psychiatry*. 2003 May 16;18(3):133–6.
 243. Seddon JL, Birchwood M, Copello A, Everard L, Jones PB, Fowler D, et al. Cannabis Use Is Associated With Increased Psychotic Symptoms and Poorer Psychosocial Functioning in First-Episode Psychosis: A Report From the UK National EDEN Study. *Schizophr Bull*. 2016 May 1;42(3):619–25.
 244. Henquet C, van Os J, Kuepper R, Delespaul P, Smits M, Campo JÀ, et al. Psychosis reactivity to cannabis use in daily life: an experience sampling study. *Br J Psychiatry*. 2010 Jun 2;196(6):447–53.
 245. Grech A, Van Os J, Jones PB, Lewis SW, Murray RM. Cannabis use and outcome of recent onset psychosis. *Eur Psychiatry*. 2005 Jun 16;20(4):349–53.
 246. Addington J, Addington D. Patterns, predictors and impact of substance use in early psychosis: a longitudinal study. *Acta Psychiatr Scand*. 2007 Apr 13;115(4):304–9.
 247. Gonzalez-Pinto A, Alberich S, Barbeito S, Gutierrez M, Vega P, Ibanez B, et al. Cannabis and First-Episode Psychosis: Different Long-term Outcomes Depending

- on Continued or Discontinued Use. *Schizophr Bull.* 2011 May 1;37(3):631–9.
248. Stone JM, Fisher HL, Major B, Chisholm B, Woolley J, Lawrence J, et al. Cannabis use and first-episode psychosis: relationship with manic and psychotic symptoms, and with age at presentation. *Psychol Med.* 2014 Feb 24;44(3):499–506.
 249. Clausen L, Hjorthøj CR, Thorup A, Jeppesen P, Petersen L, Bertelsen M, et al. Change in cannabis use, clinical symptoms and social functioning among patients with first-episode psychosis: a 5-year follow-up study of patients in the OPUS trial. *Psychol Med.* 2014 Jan 16;44(1):117–26.
 250. Schoeler T, Monk A, Sami MB, Klamerus E, Foglia E, Brown R, et al. Continued versus discontinued cannabis use in patients with psychosis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry.* 2016 Mar;3(3):215–25.
 251. Copoglu US, Igci M, Bozgeyik E, Kokacya MH, Igci YZ, Ozden A, et al. Cannabinoid Receptor 1 (CNR1) Gene Polymorphisms in Schizophrenia Patients: Rs6454674 Polymorphism is Associated with Disease Severity. *Klin Psikofarmakol Bülteni-Bulletin Clin Psychopharmacol.* 2015 Dec 8;25(4):341–7.
 252. Suárez-Pinilla P, Roiz-Santiañez R, Ortiz-García de la Foz V, Guest PC, Ayesa-Arriola R, Córdova-Palomera A, et al. Brain structural and clinical changes after first episode psychosis: Focus on cannabinoid receptor 1 polymorphisms. *Psychiatry Res Neuroimaging.* 2015 Aug 30;233(2):112–9.
 253. Chavarría-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, Walss-Bass C, Quezada P, Dassori A, et al. Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet.* 2008 Apr 5;147B(3):279–84.
 254. Leroy S, Griffon N, Bourdel MC, Olié JP, Poirier MF, Krebs MO. Schizophrenia and the cannabinoid receptor type 1 (CB1): Association study using a single-base polymorphism in coding exon 1. *Am J Med Genet - Neuropsychiatr Genet.* 2001 Dec 8;105(8):749–52.
 255. Tsai S-J, Wang Y-C, Hong C-J. Association study between cannabinoid receptor gene (CNR1) and pathogenesis and psychotic symptoms of mood disorders*. *Am J Med Genet.* 2001 Apr 8;105(3):219–21.
 256. Legge SE, Jones HJ, Kendall KM, Pardiñas AF, Menzies G, Bracher-Smith M, et al. Association of Genetic Liability to Psychotic Experiences With Neuropsychotic Disorders and Traits. *JAMA Psychiatry.* 2019 Dec 1;76(12):1256.
 257. Banaszkiewicz I, Biala G, Kruk-Slomka M. Contribution of CB2 receptors in schizophrenia-related symptoms in various animal models: Short review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020 Jul 1;114:158–71.
 258. Krebs MO, Morvan Y, Jay T, Gaillard R, Kebir O. Psychotomimetic effects at initiation of cannabis use are associated with cannabinoid receptor 1 (CNR1) variants in healthy students. *Mol Psychiatry.* 2014 Apr 21;19(4):402–3.

259. van Winkel R, Genetic Risk and Outcome of Psychosis (GROUP) Investigators. Family-based analysis of genetic variation underlying psychosis-inducing effects of cannabis: sibling analysis and proband follow-up. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 Feb 7;68(2):148–57.
260. Rojnic Kuzman M, Bosnjak Kuharic D, Ganoci L, Makaric P, Kekin I, Rossini Gajsak L, et al. Association of CNR1 genotypes with changes in neurocognitive performance after eighteen-month treatment in patients with first-episode psychosis. *Eur Psychiatry*. 2019 Sep 1;61:88–96.
261. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci*. 1990 Mar;87(5):1932–6.
262. Basavarajappa BS, Subbanna S. CB1 receptor-mediated signaling underlies the hippocampal synaptic, learning, and memory deficits following treatment with JWH-081, a new component of spice/K2 preparations. *Hippocampus*. 2014 Feb;24(2):178–88.
263. Bossong MG, Jansma JM, van Hell HH, Jager G, Oudman E, Saliasi E, et al. Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol on Human Working Memory Function. *Biol Psychiatry*. 2012 Apr;71(8):693–9.
264. Li Y, Kim J. CB2 Cannabinoid Receptor Knockout in Mice Impairs Contextual Long-Term Memory and Enhances Spatial Working Memory. *Neural Plast*. 2016;2016:1–14.
265. Tervo-Clemmens B, Simmonds D, Calabro FJ, Day NL, Richardson GA, Luna B. Adolescent cannabis use and brain systems supporting adult working memory encoding, maintenance, and retrieval. Vol. 169, *NeuroImage*. Elsevier Inc.; 2018. 496–509 p.
266. Meier MH, Caspi A, Ambler A, Harrington H, Houts R, Keefe RSE, et al. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc Natl Acad Sci*. 2012 Oct 2;109(40).
267. Colizzi M, Tosato S, Ruggeri M. Cannabis and Cognition: Connecting the Dots towards the Understanding of the Relationship. *Brain Sci*. 2020 Feb 27;10(3):133.
268. Lichtman AH, Varvel SA, Martin BR. Endocannabinoids in cognition and dependence. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids*. 2002 Feb;66(2–3):269–85.
269. Da Silva GE, Takahashi RN. SR 141716A prevents Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced spatial learning deficit in a Morris-type water maze in mice. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2002 Feb;26(2):321–5.
270. Deadwyler SA, Goonawardena A V., Hampson RE. Short-term memory is modulated by the spontaneous release of endocannabinoids: evidence from hippocampal population codes. *Behav Pharmacol*. 2007 Sep;18(5–6):571–80.
271. Heyser CJ, Hampson RE, Deadwyler SA. Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol

- on delayed match to sample performance in rats: alterations in short-term memory associated with changes in task specific firing of hippocampal cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993 Jan;264(1):294–307.
272. Lichtman AH, Dimen KR, Martin BR. Systemic or intrahippocampal cannabinoid administration impairs spatial memory in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 1995 Jun;119(3):282–90.
 273. Mallet PE, Beninger RJ. The cannabinoid CB 1 receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by Δ^9 -tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacology (Berl).* 1998 Nov 9;140(1):11–9.
 274. Steel RWJ, Miller JH, Sim DA, Day DJ. Learning impairment by Δ^9 -tetrahydrocannabinol in adolescence is attributable to deficits in chunking. *Behav Pharmacol.* 2011 Dec;22(8):837–46.
 275. Rubino T, Realini N, Braida D, Alberio T, Capurro V, Viganò D, et al. The Depressive Phenotype Induced in Adult Female Rats by Adolescent Exposure to THC is Associated with Cognitive Impairment and Altered Neuroplasticity in the Prefrontal Cortex. *Neurotox Res.* 2009 May 28;15(4):291–302.
 276. Schneider M, Koch M. The cannabinoid agonist WIN 55,212-2 reduces sensorimotor gating and recognition memory in rats. *Behav Pharmacol.* 2002 Feb;13(1):29–37.
 277. Zhornitsky S, Pelletier J, Assaf R, Giroux S, Li CR, Potvin S. Acute effects of partial CB1 receptor agonists on cognition – A meta-analysis of human studies. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2021 Jan;104(March 2020):110063.
 278. Solowij N, Michie PT. Cannabis and cognitive dysfunction: Parallels with endophenotypes of schizophrenia? *J Psychiatry Neurosci.* 2007;32(1):30–52.
 279. Ranganathan M, D'Souza DC. The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. *Psychopharmacology (Berl).* 2006 Nov;188(4):425–44.
 280. Broyd SJ, van Hell HH, Beale C, Yücel M, Solowij N. Acute and Chronic Effects of Cannabinoids on Human Cognition—A Systematic Review. *Biol Psychiatry.* 2016 Apr 1;79(7):557–67.
 281. D'Souza DC, Abi-Saab WM, Madonick S, Forselius-Bielen K, Doersch A, Braley G, et al. Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: Implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol Psychiatry.* 2005 Mar;57(6):594–608.
 282. Henquet C, Rosa A, Krabbendam L, Papiol S, Fañanás L, Drukker M, et al. An Experimental Study of Catechol-O-Methyltransferase Val158Met Moderation of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol-Induced Effects on Psychosis and Cognition. *Neuropsychopharmacology.* 2006 Dec 23;31(12):2748–57.
 283. Bogaty SER, Lee RSC, Hickie IB, Hermens DF. Meta-analysis of neurocognition in young psychosis patients with current cannabis use. *J Psychiatr Res.* 2018 Apr;99(June 2017):22–32.

284. Karpov B, Lindgren M, Kieseppä T, Wegelius A, Suvisaari J. Cognitive functioning and cannabis use in first-episode psychosis. *Nord J Psychiatry*. 2022 Oct 3;76(7):551–8.
285. González-Pinto A, González-Ortega I, Alberich S, Ruiz de Azúa S, Bernardo M, Bioque M, et al. Opposite Cannabis-Cognition Associations in Psychotic Patients Depending on Family History. van Amelsvoort T, editor. *PLoS One*. 2016 Aug 11;11(8):e0160949.
286. Power BD, Dragovic M, Badcock JC, Morgan VA, Castle D, Jablensky A, et al. No additive effect of cannabis on cognition in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2015 Oct;168(1–2):245–51.
287. De Vos C, Leopold K, Blanke ES, Siebert S, Baumgardt J, Burkhardt E, et al. The relationship between cannabis use and cognition in people diagnosed with first-episode psychosis. *Psychiatry Res*. 2020 Nov;293(March):113424.
288. Sánchez-Gutiérrez T, Fernandez-Castilla B, Barbeito S, González-Pinto A, Becerra-García JA, Calvo A. Cannabis use and nonuse in patients with first-episode psychosis: A systematic review and meta-analysis of studies comparing neurocognitive functioning. *Eur Psychiatry*. 2020 Jan 31;63(1):e6.
289. Jockers-Scherübl MC, Wolf T, Radzei N, Schlattmann P, Rentzsch J, Gómez-Carrillo de Castro A, et al. Cannabis induces different cognitive changes in schizophrenic patients and in healthy controls. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2007 Jun;31(5):1054–63.
290. Cunha PJ, Rosa PGP, Ayres A de M, Duran FLS, Santos LC, Scazufca M, et al. Cannabis use, cognition and brain structure in first-episode psychosis. *Schizophr Res*. 2013 Jul;147(2–3):209–15.
291. Leeson VC, Harrison I, Ron MA, Barnes TRE, Joyce EM. The Effect of Cannabis Use and Cognitive Reserve on Age at Onset and Psychosis Outcomes in First-Episode Schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2012 Jul 1;38(4):873–80.
292. Rabin RA, Zakzanis KK, George TP. The effects of cannabis use on neurocognition in schizophrenia: A meta-analysis. *Schizophr Res*. 2011 May;128(1–3):111–6.
293. Yücel M, Bora E, Lubman DI, Solowij N, Brewer WJ, Cotton SM, et al. The Impact of Cannabis Use on Cognitive Functioning in Patients With Schizophrenia: A Meta-analysis of Existing Findings and New Data in a First-Episode Sample. *Schizophr Bull*. 2012 Mar 1;38(2):316–30.
294. Løberg E-M, Helle S, Nygård M, Berle J Øystein, Kroken RA, Johnsen E. The Cannabis Pathway to Non-Affective Psychosis may Reflect Less Neurobiological Vulnerability. *Front Psychiatry*. 2014;5(OCT):159.
295. Chen DY, Di X, Amaya N, Sun H, Pal S, Biswal BB. Brain activation during the N-back working memory task in individuals with spinal cord injury: a functional near-infrared spectroscopy study. 2024. p. 1–41.

296. Batalla A, Bhattacharyya S, Yücel M, Fusar-Poli P, Crippa JA, Nogué S, et al. Structural and functional imaging studies in chronic cannabis users: a systematic review of adolescent and adult findings. *PLoS One*. 2013 Feb 4;8(2):e55821.
297. Batalla A, Crippa JA, Busatto GF, Guimaraes FS, Zuardi AW, Valverde O, et al. Neuroimaging studies of acute effects of THC and CBD in humans and animals: a systematic review. *Curr Pharm Des*. 2014;20(13):2168–85.
298. Bhattacharyya S, Crippa J, Martin-Santos R, Winton-Brown T, Fusar-Poli P. Imaging the Neural Effects of Cannabinoids: Current Status and Future Opportunities for Psychopharmacology. *Curr Pharm Des*. 2009 Aug 1;15(22):2603–14.
299. Jager G, Block RI, Luijten M, Ramsey NF. Cannabis Use and Memory Brain Function in Adolescent Boys: A Cross-Sectional Multicenter Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010 Jun;49(6):561-572.e3.
300. Kanayama G, Rogowska J, Pope HG, Gruber SA, Yurgelun-Todd DA. Spatial working memory in heavy cannabis users: a functional magnetic resonance imaging study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004 Nov 16;176(3–4):239–47.
301. Schweinsburg AD, Schweinsburg BC, Medina KL, McQueeney T, Brown SA, Tapert SF. The Influence of Recency of Use on fMRI Response During Spatial Working Memory in Adolescent Marijuana Users. *J Psychoactive Drugs*. 2010 Sep 1;42(3):401–12.
302. Smith AM, Longo CA, Fried PA, Hogan MJ, Cameron I. Effects of marijuana on visuospatial working memory: an fMRI study in young adults. *Psychopharmacology (Berl)*. 2010 Jun 20;210(3):429–38.
303. Taurisano P, Antonucci LA, Fazio L, Rampino A, Romano R, Porcelli A, et al. Prefrontal activity during working memory is modulated by the interaction of variation in CB1 and COX2 coding genes and correlates with frequency of cannabis use. *Cortex*. 2016 Aug;81:231–8.
304. Bossong MG, Jager G, van Hell HH, Zuurman L, Jansma JM, Mehta MA, et al. Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Administration on Human Encoding and Recall Memory Function: A Pharmacological fMRI Study. *J Cogn Neurosci*. 2012 Mar 1;24(3):588–99.
305. Callicott JH, Egan MF, Mattay VS, Bertolino A, Bone AD, Verchinski B, et al. Abnormal fMRI Response of the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Cognitively Intact Siblings of Patients With Schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003 Apr 1;160(4):709–19.
306. Orr C, Morioka R, Behan B, Datwani S, Doucet M, Ivanovic J, et al. Altered resting-state connectivity in adolescent cannabis users. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2013 Nov 1;39(6):372–81.
307. Zalesky A, Solowij N, Yucel M, Lubman DI, Takagi M, Harding IH, et al. Effect of

- long-term cannabis use on axonal fibre connectivity. *Brain*. 2012 Jul 1;135(7):2245–55.
308. Jacobus J, Thayer RE, Trim RS, Bava S, Frank LR, Tapert SF. White matter integrity, substance use, and risk taking in adolescence. *Psychol Addict Behav*. 2013;27(2):431–42.
 309. Bourque J, Mendrek A, Durand M, Lakis N, Lipp O, Stip E, et al. Cannabis abuse is associated with better emotional memory in schizophrenia: A functional magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2013 Oct 30;214(1):24–32.
 310. Potvin S, Bourque J, Durand M, Lipp O, Lalonde P, Stip E, et al. The Neural Correlates of Mental Rotation Abilities in Cannabis-Abusing Patients with Schizophrenia: An fMRI Study. *Schizophr Res Treatment*. 2013;2013:1–10.
 311. Løberg E-M, Nygård M, Berle JØ, Johnsen E, Kroken RA, Jørgensen HA, et al. An fMRI Study of Neuronal Activation in Schizophrenia Patients with and without Previous Cannabis Use. *Front Psychiatry*. 2012;3(October):1–11.
 312. Løberg E-M. Cannabis use and cognition in schizophrenia. *Front Hum Neurosci*. 2009 Nov 24;3(NOV).
 313. Fish S, Christidi F, Karavasilis E, Velonakis G, Kelekis N, Klein C, et al. Interaction of schizophrenia and chronic cannabis use on reward anticipation sensitivity. *npj Schizophr*. 2021 Jun 16;7(1):33.
 314. Ruiz-Contreras AE, Carrillo-Sánchez K, Ortega-Mora I, Barrera-Tlapa MA, Román-López T V, Rosas-Escobar CB, et al. Performance in working memory and attentional control is associated with the rs2180619 SNP in the CNR1 gene. *Genes Brain Behav*. 2014 Feb 7;13(2):173–8.
 315. Ruiz-Contreras AE, Delgado-Herrera M, García-Vaca PA, Almeida-Rosas GA, Soria-Rodríguez G, Soriano-Bautista A, et al. Involvement of the AATn polymorphism of the CNR1 gene in the efficiency of procedural learning in humans. *Neurosci Lett*. 2011 May 2;494(3):202–6.
 316. Ruiz-Contreras AE, Carrillo-Sánchez K, Gómez-López N, Vadillo-Ortega F, Hernández-Morales S, Carnevale-Cantoni A, et al. Working memory performance in young adults is associated to the AATn polymorphism of the CNR1 gene. *Behav Brain Res*. 2013 Jan 1;236(1):62–6.
 317. Ruiz-Contreras AE, Román-López T V., Caballero-Sánchez U, Rosas-Escobar CB, Ortega-Mora EI, Barrera-Tlapa MA, et al. Because difficulty is not the same for everyone: the impact of complexity in working memory is associated with cannabinoid 1 receptor genetic variation in young adults. *Memory*. 2017 Mar 16;25(3):335–43.
 318. Colizzi M, Fazio L, Ferranti L, Porcelli A, Masellis R, Marvulli D, et al. Functional Genetic Variation of the Cannabinoid Receptor 1 and Cannabis Use Interact on Prefrontal Connectivity and Related Working Memory Behavior.

- Neuropsychopharmacology. 2015 Feb 20;40(3):640–9.
319. Ho B-C, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC. Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2011 May;128(1–3):66–75.
 320. Ferretjans R, de Souza RP, Panizzutti B, Ferrari P, Mantovani L, de Campos-Carli SM, et al. Cannabinoid receptor gene polymorphisms and cognitive performance in patients with schizophrenia and controls. *Brazilian J Psychiatry*. 2022 Feb;44(1):26–34.
 321. de Campos-Carli SM, Araújo MS, de Oliveira Silveira AC, de Rezende VB, Rocha NP, Ferretjans R, et al. Cannabinoid receptors on peripheral leukocytes from patients with schizophrenia: Evidence for defective immunomodulatory mechanisms. *J Psychiatr Res*. 2017 Apr;87(2017):44–52.
 322. Ferretjans R, de Campos SM, Ribeiro-Santos R, Guimarães FC, de Oliveira K, Cardoso ACA, et al. Cognitive performance and peripheral endocannabinoid system receptor expression in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2014 Jul;156(2–3):254–60.
 323. Roche M, Finn DP. Brain CB2 Receptors: Implications for Neuropsychiatric Disorders. *Pharmaceutics*. 2010 Aug 10;3(8):2517–53.
 324. Bioque M, Cabrera B, García-Bueno B, Mac-Dowell KS, Torrent C, Saiz PA, et al. Dysregulated peripheral endocannabinoid system signaling is associated with cognitive deficits in first-episode psychosis. *J Psychiatr Res*. 2016 Apr;75:14–21.
 325. Schacht JP, Hutchison KE, Filbey FM. Associations between Cannabinoid Receptor-1 (CNR1) Variation and Hippocampus and Amygdala Volumes in Heavy Cannabis Users. *Neuropsychopharmacology*. 2012 Oct 6;37(11):2368–76.
 326. Taurisano P, Pergola G, Monda A, Antonucci LA, Di Carlo P, Piarulli F, et al. The interaction between cannabis use and a CB1-related polygenic co-expression index modulates dorsolateral prefrontal activity during working memory processing. *Brain Imaging Behav*. 2021 Feb 2;15(1):288–99.
 327. Onwuameze OE, Nam KW, Epping EA, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC, et al. MAPK14 and CNR1 gene variant interactions: effects on brain volume deficits in schizophrenia patients with marijuana misuse. *Psychol Med*. 2013 Mar 31;43(3):619–31.
 328. Carney R, Cotter J, Firth J, Bradshaw T, Yung AR. Cannabis use and symptom severity in individuals at ultra high risk for psychosis: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. 2017 Jul 7;136(1):5–15.
 329. Khantzian EJ. The self-medication hypothesis of addictive disorders: focus on heroin and cocaine dependence. *Am J Psychiatry*. 1985 Nov 1;142(11):1259–64.
 330. Schofield D, Tennant C, Nash L, Degenhardt L, Cornish A, Hobbs C, et al. Reasons for Cannabis use in Psychosis. *Aust New Zeal J Psychiatry*. 2006 Jun 1;40(6–

- 7):570–4.
331. Mané A, Fernández-Expósito M, Bergé D, Gómez-Pérez L, Sabaté A, Toll A, et al. Relationship between cannabis and psychosis: Reasons for use and associated clinical variables. *Psychiatry Res.* 2015 Sep;229(1–2):70–4.
 332. Morrison PD, Zois V, McKeown DA, Lee TD, Holt DW, Powell JF, et al. The acute effects of synthetic intravenous Δ^9 -tetrahydrocannabinol on psychosis, mood and cognitive functioning. *Psychol Med.* 2009 Oct 1;39(10):1607.
 333. Curran HV, Freeman TP, Mokrysz C, Lewis DA, Morgan CJA, Parsons LH. Keep off the grass? Cannabis, cognition and addiction. *Nat Rev Neurosci.* 2016 May 7;17(5):293–306.
 334. Kolliakou A, Joseph C, Ismail K, Atakan Z, Murray RM. Why do patients with psychosis use cannabis and are they ready to change their use? *Int J Dev Neurosci.* 2011 May 21;29(3):335–46.
 335. Gregg L, Barrowclough C, Haddock G. Reasons for increased substance use in psychosis. *Clin Psychol Rev.* 2007 May;27(4):494–510.
 336. Seddon JL, Copello A, Birchwood M. Cannabis use and abstinence in first-episode psychosis: the participants' view. *Ment Heal Subst Use.* 2013 Feb;6(1):47–58.
 337. Hall W, Degenhardt L. Cannabis use and the risk of developing a psychotic disorder. *World Psychiatry.* 2008 Jun 12;7(2):68–71.
 338. Degenhardt L, Hall W. Is Cannabis Use a Contributory Cause of Psychosis? *Can J Psychiatry.* 2006 Aug 1;51(9):556–65.
 339. Núñez C, Ochoa S, Huerta-Ramos E, Baños I, Barajas A, Dolz M, et al. Cannabis use and cognitive function in first episode psychosis: differential effect of heavy use. *Psychopharmacology (Berl).* 2016 Mar 1;233(5):809–21.
 340. Boi S, Sanz-Aranguez B, Salvador MTG, Labrador RG, Ruíz CMM, Caballero L, et al. Cognitive impairment in first psychotic episodes: The role of cannabis. *Eur Psychiatry.* 2021 Apr 13;64(S1):S813–4.
 341. Large M, Sharma S, Compton MT, Slade T, Nielssen O. Cannabis use and earlier onset of psychosis: A systematic meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 2011 Jun;68(6):555–61.
 342. Arnold C, Allott K, Farhall J, Killackey E, Cotton S. Neurocognitive and social cognitive predictors of cannabis use in first-episode psychosis. *Schizophr Res.* 2015;168(1–2):231–7.
 343. Ferraro L, Russo M, O'Connor J, Wiffen BDR, Falcone MA, Sideli L, et al. Cannabis users have higher premorbid IQ than other patients with first onset psychosis. *Schizophr Res.* 2013 Oct;150(1):129–35.
 344. Oscoz-Irurozqui M, Guardiola-Ripoll M, Almodóvar-Payá C, Guerrero-Pedraza A, Hostalet N, Carrion MI, et al. Clinical and cognitive outcomes in first-episode

- psychosis: focus on the interplay between cannabis use and genetic variability in endocannabinoid receptors. *Front Psychol.* 2024 Aug 12;15(August):1–9.
345. Rodríguez-Sánchez JM, Ayesa-Arriola R, Mata I, Moreno-Calle T, Perez-Iglesias R, González-Blanch C, et al. Cannabis use and cognitive functioning in first-episode schizophrenia patients. *Schizophr Res.* 2010 Dec;124(1–3):142–51.
 346. Joyal CC, Hallé P, Lapierre D, Hodgins S. Drug abuse and/or dependence and better neuropsychological performance in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2003 Oct;63(3):297–9.
 347. Schnell T, Koethe D, Daumann J, Gouzoulis-Mayfrank E. The role of cannabis in cognitive functioning of patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* 2009 Jul 27;205(1):45–52.
 348. Stirling J, Lewis S, Hopkins R, White C. Cannabis use prior to first onset psychosis predicts spared neurocognition at 10-year follow-up. *Schizophr Res.* 2005 Jun 1;75(1):135–7.
 349. Ruiz-Veguilla M, F. Callado L, Ferrin M. Neurological Soft Signs in Patients with Psychosis and Cannabis Abuse: A Systematic Review and Meta-Analysis of Paradox. *Curr Pharm Des.* 2012 Sep 12;18(32):5156–64.
 350. Amoretti S, Verdolini N, Varo C, Mezquida G, Sánchez-Torres AM, Vieta E, et al. Is the effect of cognitive reserve in longitudinal outcomes in first-episode psychoses dependent on the use of cannabis? *J Affect Disord.* 2022 Apr;302(January):83–93.
 351. Diamond A. Executive Functions. *Annu Rev Psychol.* 2013 Jan 3;64(1):135–68.
 352. Hill SY, Sharma V, Jones BL. Lifetime use of cannabis from longitudinal assessments, cannabinoid receptor (CNR1) variation, and reduced volume of the right anterior cingulate. *Psychiatry Res Neuroimaging.* 2016 Sep 30;255:24–34.
 353. Hillard CJ, Weinlander KM, Stuhr KL. Contributions of endocannabinoid signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence. *Neuroscience.* 2012 Mar 1;204:207–29.
 354. Parsons LH, Hurd YL. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. *Nat Rev Neurosci.* 2015 Oct 16;16(10):579–94.
 355. Di Bartolomeo M, Čerňanová A, Petrušová V, Di Martino S, Hodosy J, Drago F, et al. DNA methylation at cannabinoid type 1 and dopamine D2 receptor genes in saliva samples of psychotic subjects: Is there an effect of Cannabis use? *Pharmacol Res.* 2024 Oct;208(May):107343.
 356. Rushworth MFS, Behrens TEJ, Rudebeck PH, Walton ME. Contrasting roles for cingulate and orbitofrontal cortex in decisions and social behaviour. *Trends Cogn Sci.* 2007 Apr;11(4):168–76.
 357. Jódar Vicente M. Funciones cognitivas del lóbulo frontal. *Rev Neurol.* 2004;39(02):178.

358. Grahn JA, Parkinson JA, Owen AM. The cognitive functions of the caudate nucleus. *Prog Neurobiol*. 2008 Nov;86(3):141–55.
359. Ishiguro H, Horiuchi Y, Tabata K, Liu Q-R, Arinami T, Onaivi ES. Cannabinoid CB2 Receptor Gene and Environmental Interaction in the Development of Psychiatric Disorders. *Molecules*. 2018 Jul 24;23(8):1836.
360. Luongo L, Palazzo E, Tambaro S, Giordano C, Gatta L, Scafuro MA, et al. 1-(2',4'-dichlorophenyl)-6-methyl-N-cyclohexylamine-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazole-3-carboxamide, a novel CB2 agonist, alleviates neuropathic pain through functional microglial changes in mice. *Neurobiol Dis*. 2010 Jan;37(1):177–85.
361. Ashton JC, Glass M. The cannabinoid CB2 receptor as a target for inflammation-dependent neurodegeneration. *Curr Neuropharmacol*. 2007;5(2):73–80.
362. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong J, Patel S, Meozzi PA, Myers L, et al. Functional Expression of Brain Neuronal CB2 Cannabinoid Receptors Are Involved in the Effects of Drugs of Abuse and in Depression. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Oct 6;1139(1):434–49.
363. Zhang H, Gao M, Shen H, Bi G, Yang H, Liu Q, et al. Expression of functional cannabinoid CB 2 receptor in VTA dopamine neurons in rats. *Addict Biol*. 2017 May 1;22(3):752–65.
364. Benito C, Tolón RM, Pazos MR, Núñez E, Castillo AI, Romero J. Cannabinoid CB 2 receptors in human brain inflammation. *Br J Pharmacol*. 2008 Jan 29;153(2):277–85.
365. Jordan CJ, Xi Z-X. Progress in brain cannabinoid CB2 receptor research: From genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019 Mar;98(1):208–20.
366. Hyde LW, Bogdan R, Hariri AR. Understanding risk for psychopathology through imaging gene–environment interactions. *Trends Cogn Sci*. 2011 Sep;15(9):417–27.
367. Kandilarova S, Stoyanov D, Popivanov ID, Kostianev S. Application of functional magnetic resonance imaging in psychiatric clinical evaluation: Controversies and avenues. *J Eval Clin Pract*. 2018 Aug 13;24(4):807–14.
368. Kobeleva X, Varoquaux G, Dagher A, Adhikari MH, Grefkes C, Gilson M. Advancing brain network models to reconcile functional neuroimaging and clinical research. *NeuroImage Clin*. 2022 Sep;36(9):103262.
369. Geoffroy PA, Etain B, Houenou J. Gene X Environment Interactions in Schizophrenia and Bipolar Disorder: Evidence from Neuroimaging. *Front Psychiatry*. 2013;4(October):1–7.
370. Wainberg M, Jacobs GR, di Forti M, Tripathy SJ. Cannabis, schizophrenia genetic risk, and psychotic experiences: a cross-sectional study of 109,308 participants from the UK Biobank. *Transl Psychiatry*. 2021 Apr 9;11(1):211.

371. Vaucher J, Keating BJ, Lasserre AM, Gan W, Lyall DM, Ward J, et al. Cannabis use and risk of schizophrenia: a Mendelian randomization study. *Mol Psychiatry*. 2018 May 24;23(5):1287–92.
372. Adorjan K, Papiol S. Genetic Risk of Psychosis in Relation to Cannabis Use: Findings from Polygenic Risk Score Approaches. *J Psychiatry Brain Sci*. 2019;1–8.
373. Aas M, Melle I, Bettella F, Djurovic S, Le Hellard S, Bjella T, et al. Psychotic patients who used cannabis frequently before illness onset have higher genetic predisposition to schizophrenia than those who did not. *Psychol Med*. 2018 Jan 2;48(1):43–9.
374. Pasman JA, Verweij KJH, Gerring Z, Stringer S, Sanchez-Roige S, Treur JL, et al. GWAS of lifetime cannabis use reveals new risk loci, genetic overlap with psychiatric traits, and a causal effect of schizophrenia liability. *Nat Neurosci*. 2018 Sep 27;21(9):1161–70.
375. Johnson EC, Demontis D, Thorgeirsson TE, Walters RK, Polimanti R, Hatoum AS, et al. A large-scale genome-wide association study meta-analysis of cannabis use disorder. *The Lancet Psychiatry*. 2020 Dec;7(12):1032–45.
376. Cosker E, Schwitzer T, Ramoz N, Ligier F, Lalanne L, Gorwood P, et al. The effect of interactions between genetics and cannabis use on neurocognition. A review. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2018 Mar;82:95–106.
377. Pelayo-Terán JM, Pérez-Iglesias R, Mata I, Carrasco-Marín E, Vázquez-Barquero JL, Crespo-Facorro B. Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met variations and cannabis use in first-episode non-affective psychosis: Clinical-onset implications. *Psychiatry Res*. 2010;179(3):291–6.
378. Bernardo M, Bioque M, Parellada M, Saiz Ruiz J, Cuesta MJ, Llerena A, et al. Criterios de valoración clínicos y de funcionamiento en un estudio de interacción gen-ambiente en primeros episodios psicóticos (PEPs). *Rev Psiquiatr Salud Ment*. 2013 Jan;6(1):4–16.
379. Rodríguez-Sánchez JM, Setién-Suero E, Suárez-Pinilla P, Mayoral Van Son J, Vázquez-Bourgon J, Gil López P, et al. Ten-year course of cognition in first-episode non-affective psychosis patients: PAFIP cohort. *Psychol Med*. 2022 Mar 20;52(4):770–9.
380. De La Serna E, Mayoral M, Baeza I, Arango C, Andrés P, Bombin I, et al. Cognitive functioning in children and adolescents in their first episode of psychosis: Differences between previous cannabis users and nonusers. *J Nerv Ment Dis*. 2010 Feb;198(2):159–62.
381. Mata I, Rodríguez-Sánchez JM, Pelayo-Terán JM, Pérez-Iglesias R, González-Blanch C, Ramírez-Bonilla M, et al. Cannabis abuse is associated with decision-making impairment among first-episode patients with schizophrenia-spectrum psychosis. *Psychol Med*. 2008 Sep 16;38(9):1257–66.
382. Setién-Suero E, Martínez-García O, de la Foz VOG, Vázquez-Bourgon J, Correa-

- Ghisays P, Ferro A, et al. Age of onset of Cannabis use and cognitive function in first-episode non-affective psychosis patients: Outcome at three-year follow-up. *Schizophr Res*. 2018;201:159–66.
383. Bourque J, Afzali MH, Conrod PJ. Association of Cannabis Use With Adolescent Psychotic Symptoms. *JAMA Psychiatry*. 2018 Aug 1;75(8):864.
384. Leweke FM, Piomelli D, Pahlisch F, Muhl D, Gerth CW, Hoyer C, et al. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry*. 2012 Mar 20;2(3):e94–e94.
385. Bhattacharyya S, Wilson R, Appiah-Kusi E, O'Neill A, Brammer M, Perez J, et al. Effect of Cannabidiol on Medial Temporal, Midbrain, and Striatal Dysfunction in People at Clinical High Risk of Psychosis. *JAMA Psychiatry*. 2018 Nov 1;75(11):1107.
386. Rohleder C, Müller JK, Lange B, Leweke FM. Cannabidiol as a Potential New Type of an Antipsychotic. A Critical Review of the Evidence. *Front Pharmacol*. 2016 Nov 8;7(NOV).
387. Waldo Zuardi A, Alexandre S, Crippa J, E.C. Hallak J, Bhattacharyya S, Atakan Z, Martin-Santos R, et al. A Critical Review of the Antipsychotic Effects of Cannabidiol: 30 Years of a Translational Investigation. *Curr Pharm Des*. 2012 Sep 12;18(32):5131–40.