

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-graduação em Neurociências

**Correlação entre Desempenho Cognitivo e Componentes do Sistema  
Endocanabinóide em Linfócitos Periféricos de Pacientes com  
Esquizofrenia e Controles**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas  
da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito  
parcial à obtenção do título de Mestre em Neurociências.

**Autor**

**Rodrigo Ferretjans**

**Orientador**

**Prof. Dr. João Vinícius Salgado**

**Belo Horizonte**

**2013**

Ferretjans, Rodrigo.

Correlação entre desempenho cognitivo e componentes do sistema endocanabinóide em linfócitos periféricos de pacientes com esquizofrenia e controles [manuscrito] / Rodrigo Ferretjans. - 2013.

106f.: il. ; 29,5 cm.

Orientador: João Vinícius Salgado.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Esquizofrenia - Fisiopatologia - Teses. 2. Cognição - Teses. 3. Sistema endocanabinóide. 4. Cannabis. 5. Sistema imune - Teses. 6. Neurociências - Teses I. Salgado, João Vinícius. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612.8

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer às pessoas que estiveram presente na minha vida durante a realização do mestrado e sem as quais este trabalho não seria possível:

Ao Prof. Dr. João Vinícius Salgado pela orientação, confiança e inspiração.

Aos Professores Dr. Antônio Lúcio Teixeira, Dr. Fabrício Moreira e Dr. Guilherme Nogueira, pelas contribuições inestimáveis.

Ao Dr. Rafael Ribeiro Santos pela amizade, companheirismo e parceria.

À equipe do PESQUIZO, em especial à Salvina, pela colaboração.

À direção e equipe do Hospital de Ensino Instituto Raul Soares, pelo apoio.

À equipe do CAPS de Nova Lima, em especial Denise e Rogéria, pela compreensão e apoio.

Aos pacientes que aceitaram participar deste trabalho, pela confiança.

À minha família, em especial meus pais, Devavi e Cláudio, e minha avó Marlene, pelo amor e cuidado, essenciais para que eu achasse meu caminho.

À *Fernanda* e ao meu filho *Érico*, amores da minha vida. Obrigado pelo apoio, paciência e pelo amor de vocês.

*"Para mim, é muito melhor compreender o Universo como ele realmente é do que persistir no engano, por mais satisfatório e tranquilizador que possa parecer."*

Carl Sagan,  
O mundo assombrado pelos demônios

## RESUMO

A esquizofrenia é uma síndrome psiquiátrica crônica caracterizada por déficits cognitivos generalizados e que são responsáveis por grande parte das disfunções sócio-ocupacionais relacionadas à doença. As opções terapêuticas atuais não melhoram significativamente a função cognitiva dos pacientes. A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos com os déficits cognitivos poderá contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. O sistema endocanabinóide exerce papel modulatório importante sobre a neurotransmissão e plasticidade neuronal que, são importantes para o funcionamento cognitivo normal. Diversas linhas de evidência apontam para a participação de alterações deste sistema neurotransmissor na fisiopatologia da esquizofrenia e que alterações de elementos do SEC em linfócitos periféricos poderiam refletir as alterações centrais. O objetivo deste trabalho foi buscar evidências da participação de alterações do SEC na fisiopatologia dos déficits cognitivos da esquizofrenia. Pacientes e controles foram submetidos à avaliação clínica e a uma bateria de testes cognitivos (potencial evocado P300, BACS e SCoRS) e a expressão de receptores endocanabinóides foi medida na superfície de linfócitos e células NK periféricas por imunofenotipagem e citometria de fluxo. Os resultados mostraram que o aumento de receptores CB2 em linfócitos foi associado ao pior desempenho cognitivo nos pacientes. Portanto, os déficits cognitivos nos pacientes com esquizofrenia podem estar associados com os níveis de expressão de receptores CB2 em linfócitos periféricos e estas células podem refletir as alterações de receptores endocanabinóides centrais em áreas cerebrais envolvidas com os processos cognitivos ou em células microgliais, que quando ativadas podem contribuir para a piora da função cognitiva. Estes dados fornecem evidências adicionais da participação de alterações do SEC na fisiopatologia dos déficits cognitivos na esquizofrenia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esquizofrenia; Cognição; Déficit cognitivos; Sistema endocanabinóide; Cannabis; Sistema imune; Fisiopatologia.

## ABSTRACT

Schizophrenia is a chronic psychiatric syndrome characterized by generalized cognitive deficits that are responsible for much of the functional impairment associated with the disease. Current treatment options cannot significantly improve cognitive function. Understanding of the pathophysiological mechanisms involved in the cognitive deficits may contribute to the development of better therapeutic strategies. The endocannabinoid system modulates neurotransmission and neuronal plasticity and is important for cognitive functioning. Evidence points to the involvement of this neurotransmitter system in the pathophysiology of schizophrenia and that alteration of the endocannabinoid system in peripheral lymphocytes could reflect central changes. The objective of this study was to find evidence of the involvement of the endocannabinoid system in the pathophysiology of cognitive deficits of schizophrenia. Patients and controls underwent clinical assessment and a cognitive battery (P300 evoked potential, SCoRS and BACS) and the expression of cannabinoid receptors on the surface of peripheral blood lymphocytes and NK cells was assessed by flow cytometry immunophenotyping. The results showed that increase of CB2 receptors on lymphocytes was correlated with impaired cognitive performance in patients. Therefore, the cognitive deficits in schizophrenia may be associated with the expression levels of CB2 receptors on peripheral lymphocytes, and these cells may reflect changes of central cannabinoid receptors in brain areas involved in cognitive processes or in microglial cells, which when activated can contribute to the worsening of cognitive function. These data provide additional evidence of the involvement of the endocannabinoid system in the pathophysiology of cognitive deficits in schizophrenia.

**KEY WORDS:** Schizophrenia; Cognition; Cognitive deficits; Endocannabinoid system; Cannabis; Immune system; Pathophysiology.

## **LISTAGEM DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

AEA – araquidonoil etanolamina

AIMS – Escala de Movimentos Involuntários Anormais (Abnormal Involuntary Movement Scale)

AP – Antipsicótico

BACS – Escala Breve de Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia)

BDNF – Brain derived neurotrophic factor

CB1R – receptor endocanabinóide CB1

CB2R – receptor endocanabinóide CB2

CCA – córtex cingulado anterior

CCP – córtex cingulado posterior

Ct – controles

CPFdl – córtex pré-frontal dorso-lateral

Dígito – Tarefa de sequenciamento de dígitos

DP – desvio padrão

DSM-VI – Manual Diagnóstico e Estatístico, 4ª edição (Diagnostic and Statistical Manual)

ECBs – Endocanabinóides

ECT – Eletroconvulsoterapia

Eqz – pacientes com esquizofrenia

FAAH – fatty acid amide hydrolase

FDA – Food and Drug Administration

FHEMIG – Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais

Fiocruz – Fundação Osvaldo Cruz

FV-A – Fluência verbal - nome de animais

FV-F – Fluência verbal - letra F

FV-S – Fluência verbal - letra S

FV – Faixa de variação

HPA – Hipotálamo-pituitária-adrenal

IMF – Intensidade média de fluorescência

Linfócitos Th – Linfócitos T auxiliares ou T helper

Linfócitos Tc – Linfócitos T citotóxicos

LTP – Long-term potentiation

MAGL – monoacylglyceride lipase

MATRICS – Pesquisa de Avaliação e Tratamento para Melhora da Cognição na Esquizofrenia  
(Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia)

MCCB – Matrics Consensus Cognitive Battery

MINI-Plus – Mini-international Neuropsychiatry Interview

MMN – Mismatch negativity

N – Número de sujeitos

NK – Células “natural killer”

PANSS – Escala da Síndrome Positiva e Negativa (Positive and Negative Syndrome Scale)

PPI – Inibição de pré-pulso do reflexo de sobressalto (Prepulse Inibition)

SCoRS – Escala de Avaliação Cognitiva na Esquizofrenia (Schizophrenia Cognition Rating Scale)

SEC – Sistema endocanabinóide

SI – Sistema imune

Símbolo – Tarefa de codificação de símbolos

SM – Salário-mínimo

Token – Tarefa motora das fichas

TOL – Torre de Londres

UE – União estável



## LISTA DE TABELAS

TABELA 01. Tarefas da BACS e domínios cognitivos avaliados.....	50
TABELA 02. Anticorpos específicos de superfície celular utilizados para identificação de populações e de subpopulações celulares.....	52
TABELA 03. Caracterização sócio-demográfica da população estudada.....	58
TABELA 04. Características clínicas dos pacientes com esquizofrenia.....	59
TABELA 05. Caracterização do desempenho cognitivo.....	62
TABELA 06. Expressão de CBRs em linfócitos periféricos.....	63
TABELA 07. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e P300 nos pacientes (valores de rho e p).....	65
TABELA 08. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e BACS (escore geral) nos pacientes e controles (valores de rho e p).....	69
TABELA 09. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e SCoRS nos pacientes (valores de rho e p).....	71
TABELA 10. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e SCoRS nos controles (valores de rho e p).....	72
TABELA 11. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e variáveis clínicas (valores de rho e p).....	76
TABELA 12. Correlações entre níveis de expressão de CBRs em linfócitos periféricos e desempenho cognitivo de pacientes com esquizofrenia e controles.....	80
TABELA 13. Trabalhos que avaliaram a expressão de CB1R no SNC (áreas envolvidas com processos cognitivos) de pacientes com esquizofrenia e controles.....	84

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e amplitude do P300.....	66
GRÁFICO 02. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e amplitude do P300 (sem outliers).....	66
GRÁFICO 03. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e latência do P300.....	67
GRÁFICO 04. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e latência do P300 (sem outliers).....	67
GRÁFICO 05. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS.....	73
GRÁFICO 06. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS.....	73
GRÁFICO 07. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS (sem outlier).....	74
GRÁFICO 08. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS (sem outlier).....	74
GRÁFICO 09. Correlação entre expressão de CB1R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos controles medido pela SCoRS.....	75

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01. Os testes neurofisiológicos, neuropsicológicos e as medidas co-primárias podem ser localizadas em um <i>continuum</i> .....	33
FIGURA 02. Uma visão simplificada do sistema endocanabinóide, seus principais componentes e mecanismos.....	34
FIGURA 03. Estratégia de análise utilizada para avaliação da expressão de receptores canabinóides na população de linfócitos totais.....	53
FIGURA 04. Aumento de CB2R periférico refletindo alteração de expressão de CB2R central.....	88
FIGURA 05. Aumento de CB2R periférico refletindo ativação microglial.....	91

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	16
2.1. Esquizofrenia.....	16
2.1.1. Etiologia e epidemiologia.....	17
2.1.2. Alterações neurobiológicas.....	18
2.1.3. Aspectos clínicos.....	19
2.1.4. Tratamento e prognóstico.....	20
2.1.5. Dimensão cognitiva.....	21
2.1.5.1. Domínios cognitivos afetados na esquizofrenia.....	26
2.1.5.2. Formas de medição das alterações cognitivas na esquizofrenia.....	29
2.2. Sistema endocanabinóide.....	33
2.2.1. Fisiologia.....	33
2.2.2. Evidências de relação entre a esquizofrenia e o SEC.....	36
2.3. O sistema endocanabinóide em linfócitos periféricos como espelho das alterações centrais.....	38
3. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	41
3.1. Objetivo geral.....	41
3.2. Objetivos específicos.....	41
3.3. Hipóteses.....	42
4. METODOLOGIA.....	43
4.1. Delineamento e amostra.....	43
4.2. Critérios de inclusão e exclusão.....	43
4.3. Instrumentos de avaliação.....	44
4.3.1. Questionário sócio-demográfico e clínico.....	44

4.3.2. Entrevista diagnóstica e escalas clínicas.....	45
4.3.2.1. Mini-International Neuropsychiatry Interview (MINI-Plus).....	45
4.3.2.2. Escala da Síndrome Positiva e Negativa (PANSS).....	45
4.3.2.3. Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia.....	45
4.3.2.4. Escala de efeitos extrapiramidais Simpson-Angus.....	46
4.3.2.5. Escala de Movimentos Involuntários Anormais (AIMS).....	46
4.3.3. Instrumentos de avaliação cognitiva.....	46
4.3.3.1. Potencial evocado cognitivo P300.....	46
4.3.3.2. Escala Breve de Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (BACS).....	48
4.3.3.3. Escala de Avaliação Cognitiva na Esquizofrenia (SCoRS).....	50
4.3.4. Instrumentos para análise do material biológico.....	51
4.3.4.1. Amostra de sangue.....	51
4.3.4.2. Análise da expressão de CBRs em linfócitos do sangue periférico por citometria de fluxo e imunofluorescência.....	51
4.4. Desenho experimental.....	54
4.5. Análise estatística.....	54
5. RESULTADOS.....	56
5.1. Análise descritiva da amostra.....	56
5.2. Resultados da testagem cognitiva e dos níveis de expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos.....	60
5.3. Análise de correlação entre expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos e variáveis cognitivas.....	64
5.3.1. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pelo potencial evocado cognitivo P300.....	64

5.3.2. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pela BACS.....	68
5.3.3. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pela SCoRS.....	70
5.4. Análise de correlação entre expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos e variáveis clínicas.....	75
6. DISCUSSÃO.....	77
6.1. Associação de CB2R com desempenho cognitivo refletiria as alterações de CB2R centrais na esquizofrenia.....	80
6.2. Associação de CB2R com desempenho cognitivo refletiria as alterações da micróglia ativada na esquizofrenia.....	88
7. CONCLUSÃO.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
ANEXO.....	106
Artigo de revisão da literatura: “The endocannabinoid system and its role in schizophrenia: a systematic review of the literature”.....	107

## 1. INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma síndrome psiquiátrica crônica e incapacitante, responsável por graus variáveis de prejuízo funcional e social e relacionada a altos custos sociais (TANDON et al., 2009). Apesar do conhecimento crescente a respeito de seus fatores etiológicos e substratos neurobiológicos, seus mecanismos etiológicos e fisiopatogênicos ainda não estão completamente compreendidos.

Os déficits cognitivos são centrais na doença, pois estão presentes em graus variados na grande maioria dos pacientes e são fortemente relacionados com os prejuízos funcionais. Os tratamentos atuais não são efetivos para o tratamento da dimensão cognitiva. A maior compreensão de seus determinantes neurobiológicos poderá contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais efetivas e que melhorem a funcionalidade dos pacientes (GREEN et al., 2000; GOLDBERG e GREEN, 2002; PALMER et al., 2009; TANDON et al., 2009).

O sistema endocanabinóide (SEC) é um sistema neurotransmissor endógeno com propriedades modulatórias de diversas funções fisiológicas, dentre elas as cognitivas (KANO et al., 2009). Diversas linhas de evidência apontam para a relação entre o SEC e a esquizofrenia. Alterações do SEC foram descritas em pacientes com esquizofrenia e podem contribuir para a fisiopatologia dos déficits cognitivos (FERNANDEZ-ESPEJO et al., 2009).

Portanto, o melhor entendimento das relações entre alterações do SEC e as alterações cognitivas na esquizofrenia poderá contribuir para a compreensão dos aspectos fisiopatológicos destes déficits e auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Com este objetivo, o presente trabalho avalia associações entre expressão de receptores endocanabinóides periféricos e desempenho cognitivo nos pacientes com esquizofrenia e controles saudáveis buscando evidências da participação de alterações do SEC na fisiopatologia dos déficits cognitivos da esquizofrenia.

## **2. ANTECEDENTES CINTÍFICOS**

### **2.1. Esquizofrenia**

A esquizofrenia é uma doença psiquiátrica crônica, recidivante, heterogenia em relação aos seus aspectos etiológicos, neurobiológicos e clínicos, e que leva a graus variados de prejuízo funcional e social, o que a caracteriza como uma das principais causas de incapacidade no mundo (TANDON et al., 2009). Considerada o protótipo da “loucura”, talvez seja a doença mais importante da psiquiatria e uma das mais relevantes em toda a medicina.

O conceito atual de esquizofrenia como uma entidade nosológica única deriva principalmente dos trabalhos de Kraepelin, Bleuler e Schneider do final do século XIX e início do século XX. Kraepelin enfatizava o quadro clínico geral como definidor da doença: início na adolescência, curso crônico e deteriorante e desfecho invariavelmente negativo, com prejuízos pervasivos e permanentes nas funções mentais. Bleuler, quando usou o termo “esquizofrenias”, já prenunciava que a doença talvez não fosse uma entidade única, mas sim um grupo de doenças com manifestações semelhantes. Ele acreditava que a alteração fundamental era a desintegração das funções mentais (afrouxamento de associações, embotamento afetivo, ambivalência e autismo). Schneider, operacionalizando conceitos de Jaspers, considerava que os sintomas de primeira-ordem eram o fundamento da esquizofrenia (TANDON et al., 2009).

Estes conceitos continuam atuais, pois formam a base de nossos sistemas diagnósticos contemporâneos (CID-10 e DSM-IV), que se fundamentam nas características clínicas consideradas “fundamentais” por estes três autores: curso e desfecho (Kraepelin), sintomas positivos (Schneider) e negativos (Bleuler) (OMS, 1993; APA, 2004). Para o diagnóstico da doença, os critérios do DSM-IV requerem a presença de sintomas positivos e negativos por um período mínimo de um mês, disfunção sócio-ocupacional por mais de 6 meses, e a exclusão de transtornos de humor, uso de substâncias, condições médicas gerais ou transtorno invasivo do desenvolvimento (APA, 2004; TANDON et al., 2009).



O volume crescente de pesquisas de sua etiologia, patogênese, fisiopatologia e tratamento nas últimas cinco décadas ampliou nossa base de conhecimento sobre esta entidade, mas ainda não modificou fundamentalmente nossa compreensão sobre a doença. Apesar disso, um conceito fundamental e incontestado emerge deste grande volume de pesquisas: a esquizofrenia é uma doença de base cerebral, com uma etiologia específica (mesmo que ainda não completamente compreendida) e uma patologia identificável (mesmo que ainda descrita de forma incompleta). Na verdade, entende-se a esquizofrenia atualmente não como uma doença única, mas como uma síndrome composta provavelmente por diversas doenças diferentes que se manifestam clinicamente de forma similar (TANDON et al., 2008a). Por estas razões, os termos doença(s) ou síndrome serão usados para designar a esquizofrenia neste trabalho.

Serão apresentados brevemente os dados mais consistentes da pesquisa em esquizofrenia em relação aos seus aspectos etiológicos, epidemiológicos, neurobiológicos e clínicos.

### **2.1.1. Epidemiologia e Etiologia**

A epidemiologia da esquizofrenia não parece variar muito entre populações e culturas diferentes. Apresenta uma prevalência de aproximadamente 4,5/1000 e incidência anual de 8-40/100.000 e o risco ao longo da vida de desenvolver a doença é de aproximadamente 0,7% (TANDON et al., 2008b).

As causas da esquizofrenia ainda não são totalmente compreendidas. Sabe-se que diversos fatores genéticos e ambientais interagem entre si e com os mecanismos de desenvolvimento cerebral para causar a doença (INSEL, 2010).

A esquizofrenia é fortemente relacionada a fatores genéticos, com uma herdabilidade – proporção da variância na predisposição a uma doença que é devido a efeitos genéticos – de aproximadamente 80%. Apesar da grande quantidade de pesquisas nesta área, até o momento não se conseguiu delimitar especificamente suas bases genéticas. Sabe-se que é uma doença poligênica,

com múltiplos polimorfismos comuns, cada um contribuindo com um pequeno tamanho de efeito, mas nenhum sendo necessário ou suficiente para seu desenvolvimento (TANDON et al., 2008b).

Além dos fatores genéticos, diversos fatores etiológicos ambientais foram reconhecidos. Exposições pré/perinatais (infecções, deficiências nutricionais, eventos psicossociais estressores maternos), durante a infância (trauma infantil, traumatismo craniano, urbanicidade, migração) ou adolescência (uso de maconha) estão associados a maior predisposição à esquizofrenia, apesar de assim como em relação aos fatores genéticos, nenhum fator de risco ambiental ser necessário ou suficiente para causar a síndrome (TANDON et al., 2008b; VAN OS et al., 2010).

O conhecimento sobre os fatores genéticos e ambientais relacionados à esquizofrenia (fatores etiológicos) tem crescido muito, mas quais exposições específicas e como estes fatores interagem para causar a(s) doença(s) (etiologia) ainda não está completamente compreendido.

### **2.1.2. Alterações Neurobiológicas**

Diversas alterações neurobiológicas cerebrais foram identificadas em pacientes com esquizofrenia, o que provavelmente reflete diversos mecanismos fisiopatológicos diferentes que fazem parte da síndrome. Alterações estruturais (reduções volumétricas globais, redução de substância cinzenta de regiões específicas, alargamento de ventrículos, alterações de substância branca), funcionais (redução da ativação do córtex pré-frontal dorso-lateral), neurofisiológicas (alterações de medidas de potenciais evocados cerebrais – P300, mismatch negativity (MMN), inibição de pré-pulso –, anormalidades de movimentos oculares, de arquitetura do sono e de sincronia neural), neuroquímicas (alterações dopaminérgicas – hiperatividade mesolímbica e hipoatividade mesocortical –, glutamatérgicas – hipofunção NMDA – e gabaérgicas, além de outros sistemas de neurotransmissores – serotonina, acetilcolina, endocanabinóides), neuroendócrinas (hiperativação do eixo HPA) e neuropatológicas (desorganização neuronal cortical e límbica, alteração na integridade das sinapses, ausência de gliose) foram extensivamente replicadas na

esquizofrenia (ROSS et al., 2006; KESHAVAN et al., 2008). À semelhança dos fatores etiológicos, sabe-se muito a respeito dos substratos neurobiológicos, mas pouco sobre como eles interagem para causar a doença (modelos fisiopatológicos).

### **2.1.3. Aspectos Clínicos**

A esquizofrenia é classicamente caracterizada pela combinação de proporções variáveis de quatro dimensões sintomáticas (positiva, negativa, cognitiva e psicomotora), que variam entre pacientes e ao longo do tempo em um mesmo paciente (GREEN et al., 2004; LEVINE e RABINOWITZ, 2007; MORRENS et al., 2007; TANDON et al., 2009; VAN OS e KAPUR, 2009). Alguns autores acrescentam ainda mais duas dimensões, afetiva e de desorganização (ANDREASEN, 1979; NAKAYA et al., 1999; KITAMURA et al., 1995; TANDON et al., 2009). Apresenta um curso crônico, recidivante, geralmente com remissões incompletas e é associada a graus variáveis de prejuízo sócio-ocupacional e redução da qualidade e expectativa de vida (TANDON et al., 2009). A dimensão positiva se caracteriza por prejuízo no teste de realidade e inclui delírios e alucinações. A dimensão negativa é representada por um apagamento ou ausência de uma gama de funções afetivas e motivacionais normais: embotamento afetivo (prejuízo na experiência e expressão dos afetos), abulia (perda de motivação), alogia (pobreza do pensamento/discurso), anedonia (perda da capacidade de sentir prazer), avolição (perda de iniciativa), apatia (perda de interesse) e redução da interação social. A dimensão de desorganização refere-se às anormalidades do pensamento formal (circunstancialidade, afrouxamento de laços associativos, descarrilhamento, salada de palavras, neologismos) e ao comportamento desorganizado ou bizarro. A dimensão afetiva se refere à reatividade emocional elevada e sintomas depressivos, enquanto que a motora é representada por psicomotricidade reduzida e sintomas catatônicos. (MUESER e McGURK, 2004; MORRENS et al., 2007; TANDON, et al., 2009; VAN

OS e KAPUR, 2009). A dimensão cognitiva, que é o escopo deste trabalho, será descrita em detalhes a seguir.

Portanto, o quadro geral que emerge das pesquisas em esquizofrenia é de uma síndrome caracterizada por grande heterogeneidade etiológica, neurobiológica e clínica, provavelmente composta por inúmeras (talvez centenas) doenças diferentes, com mecanismos etio-fisiopatogênicos próprios, mas que compartilham uma via fisiopatológica final comum e têm uma expressão fenotípica semelhante (KESHAVAN et al., 2011).

#### **2.1.4. Tratamento e prognóstico**

Inicialmente baseado em internações prolongadas e tratamentos de suporte, o tratamento da esquizofrenia sofreu uma revolução no início da década de 1950 com a descoberta das propriedades antipsicóticas da clorpromazina. Esta verdadeira revolução científica impulsionou o desenvolvimento da moderna neuropsicofarmacologia e mudou radicalmente o manejo dos pacientes com esquizofrenia, permitindo sua desinstitucionalização e o convívio social. Passados 60 anos, e apesar da extensa pesquisa nesta área, os antipsicóticos continuam sendo a base do tratamento farmacológico da esquizofrenia. Existem atualmente mais de 60 fármacos desta classe, mas todos têm em comum o bloqueio do receptor D2 de dopamina como o único mecanismo de ação efetivo (TANDON et al., 2010).

Todos os antipsicóticos apresentam eficácia significativa somente contra as dimensões positiva e de desorganização da doença e não há diferença consistente na eficácia entre agentes individuais, com exceção da clozapina (TANDON et al., 2010). Os antipsicóticos apresentam efeitos limitados na melhora da atenção (HARVEY e KEEFE, 2001), mas inconsistentes para os outros domínios cognitivos afetados pela esquizofrenia (MORTIMER, 1997) podendo até piorá-los (GREEN e BRAFF, 2001). O efeito cognitivo geral se relaciona com o benefício marginal sobre a

atenção e a piora relacionada com os efeitos colaterais extra-piramidais e atividade anticolinérgica (KEEFE et al., 2007, DAVIDSON et al., 2009; TANDON et al., 2010).

O prognóstico e desfecho da esquizofrenia ao longo do tempo é muito variável e heterogêneo, mas tem se tornado menos maligno ao longo do último século. O tratamento com antipsicóticos combinado com terapias psicossociais contribuiu para a melhora do prognóstico nas últimas décadas (TANDON et al., 2009; TANDON et al., 2010). Apesar disso, a maior parte dos pacientes com a doença mantém graus variáveis de perda de funcionalidade e prejuízo social e vocacional, mantendo-se por muitos anos dependentes de familiares ou instituições. Este prognóstico limitado é fortemente influenciado pela persistência dos prejuízos cognitivos característicos da doença.

#### **2.1.5. Dimensão Cognitiva**

Desde a primeira descrição da esquizofrenia por Kraepelin no final do século XIX, os aspectos cognitivos da doença já eram relatados. Ao denominar a condição como *dementia praecox*, Kraepelin valorizava as alterações cognitivas, tais como dificuldades de atenção e memória, que acreditava ser uma dimensão sintomatológica fundamental, ter um início precoce e uma piora progressiva (PALMER et al., 2009; TANDON et al., 2009).

Apesar do reconhecimento inicial, a dimensão cognitiva perdeu interesse da comunidade científica com o crescimento e hegemonia das teorias psicogênicas das doenças psiquiátricas durante grande parte do século XX. Foi somente no último quarto deste século que os aspectos neurocognitivos da esquizofrenia retornaram ao centro do interesse científico (PALMER et al., 2009). Esta retomada de um conceito kraepelineano pode ser facilmente percebido pelo aumento exponencial do número de trabalhos sobre a dimensão cognitiva da esquizofrenia. Em uma pesquisa pelo banco de dados PubMed utilizando os unitermos “schizophrenia” e “cognition”, encontra-se

que de 1946 a 1989 foram publicados em média 25 artigos por ano e de 1990 a 2012 a média de publicações saltou para 315 artigos anuais.

A extensão e o padrão dos déficits cognitivos encontrados nos pacientes com esquizofrenia foi foco de um volume grande de trabalhos que procuravam determinar a diferença em testes neuropsicológicos entre indivíduos com esquizofrenia e controles saudáveis. Diversas metanálises (HEINRICHS e ZACZANIS, 1998; FIORAVANTI et al., 2005; DICKINSON et al., 2007; MESHOLAN-GATELY et al., 2009) agruparam estes resultados e permitiram algumas conclusões gerais. Resultados heterogêneos entre pacientes, domínios e estudos dificultam o estabelecimento de um perfil cognitivo característico dos pacientes com esquizofrenia, mas, de forma geral, a doença é caracterizada por déficits neurocognitivos generalizados na maioria dos domínios cognitivos pesquisados, de intensidade leve a moderada e aproximadamente um desvio-padrão abaixo da média normativa (PALMER et al., 2009). Os domínios cognitivos mais consistentemente afetados são: memória de trabalho, atenção/vigilância, memória e aprendizagem verbal, memória e aprendizagem visual, raciocínio e resolução de problemas, velocidade de processamento, compreensão verbal e cognição social (GREEN et al., 2004; NUECHTRLEIN et al., 2004; TANDON et al., 2009).

A heterogeneidade caracteriza a esquizofrenia em relação a todos os seus aspectos e no domínio cognitivo não é diferente. A grande maioria dos pacientes apresenta algum grau de prejuízo cognitivo, mas aproximadamente 20 a 25% deles apresentam perfis neuropsicológicos dentro da faixa de normalidade. Entretanto, a normalidade neuropsicológica não exclui que haja prejuízo relacionado à doença. Uma parte destes pacientes realmente não apresenta déficits cognitivos, mas a outra é composta por pessoas que funcionam na faixa de normalidade, mas que teriam um potencial cognitivo maior se não desenvolvessem a doença. Ou seja, apresentam redução da capacidade cognitiva, mas, provavelmente por terem uma reserva cognitiva maior, não cruzam a faixa de normalidade (KEEFE e FENTON, 2007; PALMER et al., 2009).

Estudos de análise de clusters identificaram que os pacientes podem ser agrupados em quatro grandes grupos gerais quanto ao seu prejuízo cognitivo: normais; prejuízo global e severo; e dois grupos intermediários com prejuízos de intensidade variáveis e uma ou duas dimensões cognitivas mais comprometidas (PALMER et al., 2009).

Quanto ao curso ao longo do tempo, sabe-se que graus variáveis de prejuízo cognitivo podem ser detectados na fase pré-mórbida, mesmo antes do início formal da doença. Com o início da doença clínica, parece haver um pequeno declínio adicional no desempenho cognitivo global, que se situa em média entre 1/3 e 1/2 desvio-padrão. Depois do desenvolvimento da doença, o funcionamento cognitivo mantém-se relativamente estável ao longo do seu curso, podendo haver até uma leve melhora no início da fase de estabilização do primeiro episódio psicótico (GOLDBERG e GREEN, 2002; PALMER et al., 2009; TANDON et al., 2009).

O pior desempenho cognitivo também foi demonstrado em parentes de primeiro grau saudáveis de pacientes com esquizofrenia, o que sugere contribuição genética destas alterações e sua possível utilização como endofenótipos para a doença. (GOLDBERG e GREEN, 2002; MONTEIRO e LOUZÃ, 2007; TANDON et al., 2009).

Os déficits cognitivos, e em menor extensão os sintomas negativos, são responsáveis por grande parte do prejuízo funcional relacionado à doença. As dificuldades que os pacientes apresentam em aprender novas informações, realizar tarefas de forma rápida e eficiente, recordar informações relevantes e resolver problemas do dia-a-dia impactam fortemente sua capacidade de ter um trabalho competitivo, tomar decisões, viver de forma independente ou interagir socialmente de forma adequada (GOLDBERG e GREEN, 2002). Ainda é controverso se domínios cognitivos específicos, tais como atenção/vigilância, funções executivas e memória de trabalho, contribuem mais ou menos para os desfechos funcionais negativos. Talvez o mais provável seja que alguns construtos subjacentes a estes, tais como cognição social, que é a capacidade de inferir os estados mentais das outras pessoas, ou o potencial de aprendizagem dos indivíduos possam ser os

mediadores desta relação entre déficits cognitivos e a funcionalidade (GOLDBERG e GREEN, 2002; GREEN et al., 2000; BOWIE e HARVEY 2005; MONTEIRO e LOUZÃ, 2007; PALMER et al., 2009; LEIFKER et al., 2009).

Nos Estados Unidos da América, o Instituto Nacional de Saúde Mental lançou, em 2002, a iniciativa chamada Pesquisa de Avaliação e Tratamento para Melhora da Cognição na Esquizofrenia (Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia – MATRICS). Um de seus principais objetivos foi formular critérios pelos quais fármacos destinados à melhora cognitiva na esquizofrenia pudessem ser aprovados (GREEN e NUECHTERLEIN, 2004; MARDER e FENTON, 2004). Não havia, até então, consenso em relação aos domínios cognitivos mais atingidos na esquizofrenia e à bateria neuropsicológica mais adequada para avaliá-los. Este consenso foi uma das prioridades do MATRICS. De acordo com os autores, os critérios para identificação dos domínios cognitivos exigiam que apenas aqueles domínios independentes, ou fracamente relacionados aos demais, fossem incluídos. A decisão sobre a independência de um domínio poderia vir de estudos sobre sua base neurobiológica, sua resposta à medicação e sua presença na análise fatorial de estudos neuropsicológicos com pacientes. Para ser reconhecido, um domínio cognitivo também necessitava ser reproduzível em vários estudos com portadores de esquizofrenia e também ser passível de intervenção. O resultado deste processo foi a identificação de sete dimensões cognitivas separáveis, que estão acometidas na esquizofrenia. São elas: velocidade de processamento, atenção sustentada e vigilância, memória operativa, aprendizagem e memória verbal, aprendizagem e memória visual, raciocínio e solução de problemas e compreensão de vocabulário. Este último domínio, por ser muito resistente a intervenções, foi retirado do protocolo do MATRICS (NUECHTERLEIN et al., 2004). A cognição social, por outro lado, foi posteriormente adicionada como o sétimo domínio cognitivo do MATRICS. Naquele momento, se tratava de um domínio relativamente novo e pouco pesquisado na esquizofrenia e, por isso, não aparecia na análise fatorial. Por outro lado, já despertava bastante interesse, tendo sido citada em



levantamento entre especialistas da área sobre quais domínios cognitivos estes escolheriam para entrar no MATRICS. Na realidade, foi o único domínio citado nesta pesquisa que não poderia ser encaixado de uma forma ou de outra nos domínios advindos da análise fatorial (KERN et al., 2004). Assim, embora não fosse possível determinar se a cognição social era uma dimensão cognitiva unitária e separável dos demais domínios reconhecidos, ela foi incluída no MATRICS, inclusive, em função de seu potencial como mediador entre as medidas cognitivas tradicionais e o desempenho do paciente na vida real (VAUTH et al., 2004; SALGADO, 2008).

Portanto, o grande volume de pesquisa dos aspectos neurocognitivos da esquizofrenia nos últimos anos trouxe avanços na caracterização dos déficits e no reconhecimento de sua repercussão funcional. Sabe-se que déficits cognitivos estão presentes na grande maioria dos pacientes (em graus variáveis), já podem ser detectados nas fases pré-mórbidas, são persistentes, permanecendo relativamente estáveis ao longo do curso da doença, são poucos responsivos aos antipsicóticos e são fortes preditores de desfechos sociais e vocacionais desfavoráveis.

Apesar disso, pouco se avançou na compreensão dos substratos e mecanismos neurobiológicos que causam os déficits cognitivos e isso se expressa na escassez de opções terapêuticas para seu tratamento. A falta de opções terapêuticas e o grande impacto dos prejuízos cognitivos no dia-a-dia dos pacientes com esquizofrenia evidenciam a importância de novas pesquisas que visem principalmente a compreensão dos mecanismos neurobiológicos responsáveis pela fisiopatologia desta dimensão psicopatológica, o que poderá contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e avanços reais no tratamento da esquizofrenia.

Descreveremos com mais detalhes as dimensões cognitivas que serão investigadas neste trabalho além dos métodos mais empregados para a medição dos prejuízos cognitivos.

### **2.1.5.1. Domínios cognitivos afetados na esquizofrenia**

Dentre os domínios cognitivos afetados na esquizofrenia, a atenção aparece consistentemente como um dos mais prejudicados na doença. A atenção pode ser definida como a habilidade mental de selecionar para processamento ativo estímulos, memórias, pensamentos ou respostas que sejam comportamentalmente relevantes dentre outras não relevantes (RAZ, 2004). Este conceito tem se expandido e hoje entende-se a atenção como importante para o controle voluntário dos pensamentos, afetos e ações, o que está envolvido com mecanismos de controle emocional e auto-regulação do comportamento. Nos últimos anos, as técnicas de neuroimagem têm permitido avanços na caracterização dos processos neurais envolvidos com os mecanismos atencionais (RAZ, 2004). Sabe-se hoje que a atenção não é um processo único e que diferentes áreas cerebrais mediam processos atencionais diferentes e, portanto, é possível caracterizar a atenção como um sistema orgânico, com sua anatomia funcional, circuitos e estrutura celular próprias (POSNER e FAN, 2004).

Foram caracterizados três tipos de sistemas atencionais: alerta, orientação e seleção. O sistema de alerta, ou vigilância, é responsável por manter um estado de alta sensibilidade aos estímulos. As regiões cerebrais envolvidas são o *locus coeruleus*, córtex parietal e frontal direito e o principal neuromodulador é a noradrenalina. O sistema de orientação permite a focalização da atenção e a seleção de informação do input sensorial. Envolve áreas parieto-temporais e é modulada pela acetilcolina. Já o sistema de seleção, ou atenção executiva, é o responsável pelos processos de monitoramento e resolução de conflitos entre pensamentos, sentimentos e respostas e é acionado em situações que exijam esforço mental persistente, planejamento, tomada de decisão, detecção de erros, respostas novas ou não completamente aprendidas ou situações difíceis ou perigosas. As áreas cerebrais envolvidas são o córtex cingulado anterior e o córtex pré-frontal lateral e a neuromodulação é exercida pela dopamina (POSNER e FAN, 2004; RAZ, 2004). A atenção pode

ser medida por um teste neurofisiológico, como o potencial evocado P300, ou por um teste neuropsicológico, como a tarefa de codificação de símbolos.

Além da atenção, outras funções cognitivas estão mais frequentemente afetadas nos pacientes com esquizofrenia e serão avaliadas neste trabalho. Descreve-se com mais detalhes as seguintes dimensões: memória episódica verbal, memória de trabalho, fluência verbal, planejamento e resolução de problemas (as últimas três relacionadas às funções executivas) e velocidade de processamento de informação (NUECHTERLEIN et al., 2004).

A memória comporta processos complexos pelos quais o indivíduo codifica, armazena e resgata informações. Assim como a atenção, a memória não é um processo único, podendo ser dividida em componentes distintas determinadas por substratos neurobiológicos diferentes. Pode ser classificada em memória de longa duração e memória operacional ou de trabalho. A memória de longa duração se divide em explícita ou declarativa, que é a capacidade de armazenamento e recordação consciente de experiências prévias, e memória implícita ou procedural, que é a habilidade para realizar algum ato ou comportamento que originalmente exigiu algum esforço consciente, mas que, com a prática, já não mais requer. A memória explícita é composta pelas memórias episódica (de eventos) e semântica (de fatos). A memória episódica refere-se ao sistema que permite o resgate de eventos pessoais com rótulo temporal, tais como o nascimento de um filho, o dia da formatura ou uma viagem. A memória episódica pode ser avaliada em testes tais como o resgate livre de uma lista de palavras (ABREU e MATOS, 2010).

As funções executivas consistem em um conjunto de processos cognitivos que, de forma integrada, permitem ao indivíduo direcionar comportamentos a metas, avaliar a eficiência e a adequação desses comportamentos, abandonar estratégias ineficazes em prol de outras mais eficientes e, desse modo, resolver problemas imediatos, de médio e de longo prazo (MALLOY-DINIZ et al., 2008). Tais funções apresentam importante valor adaptativo, facilitando o gerenciamento e integração das outras habilidades cognitivas. Em situações em que há o

comprometimento das funções executivas, o desempenho dos indivíduos em atividades complexas, sejam elas relacionadas ao trabalho, à vida familiar ou a outros domínios do cotidiano, é altamente prejudicado (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

Os déficits das funções executivas são relacionados ao comprometimento dos circuitos neurais pré-frontais e se manifestam clinicamente de formas distintas de acordo com os circuitos que apresentam maior nível de comprometimento. Os circuitos que envolvem conexões entre o cíngulo anterior e estruturas subcorticais, quando comprometidos, geralmente acarretam em manifestações comportamentais como apatia, desmotivação, dificuldades no controle atencional, e desinibição de respostas instintivas. Já o comprometimento no circuito envolvendo a região pré-frontal dorso-lateral acarreta dificuldades cognitivas relacionadas ao estabelecimento de metas, planejamento e solução de problemas, memória de trabalho, monitoração da aprendizagem e atenção, flexibilidade cognitiva, abstração e julgamento. Por fim, os quadros que decorrem de lesões envolvendo os circuitos pré-frontais orbitofrontais são marcados por alterações abruptas da personalidade e do comportamento, estando presentes dificuldades em inibir comportamentos impróprios e tomar decisões que impliquem em postergar tendências imediatistas e considerar consequências de longo prazo (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

Diversos processos cognitivos têm sido apontados como integrantes das funções executivas, tais como planejamento e resolução de problemas, controle inibitório, tomada de decisões, memória de trabalho, flexibilidade cognitiva, atenção, categorização, fluência e criatividade (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

A memória de trabalho é o componente das funções executivas responsável pelo arquivamento temporário de informações, as quais serão disponibilizadas para outros processos cognitivos. É importante tanto para a realização de tarefas simples do dia-a-dia, tal como guardar um número de telefone, quanto para aprendizagem na infância (alfabetização, leitura e matemática) (ABREU e MATOS, 2010). A avaliação da memória de trabalho pode ser realizada através de

testes relativamente simples, tais como o teste de sequenciamento de dígitos (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

A fluência é um processo executivo caracterizado pela capacidade do indivíduo de emitir uma série de comportamentos dentro de uma estrutura de regras específica. A medida mais tradicional para a avaliação da fluência verbal é a produção de palavras sob as categorias semânticas (ex., animais, partes do corpo, alimentos) e fonológicas (produção de palavras com as letras F, A e S) (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

O planejamento consiste na capacidade de, a partir de um objetivo definido, estabelecer a melhor maneira de alcançá-lo levando em consideração a hierarquização de passos e a utilização de instrumentos necessários para a solução dos problemas. São habilidades complexas que estão diretamente relacionadas a outras funções executivas e sua avaliação requer o uso de situações em que, a partir de um problema pré-definido, o sujeito deva elaborar um plano de ação para obter a sua solução da forma mais eficiente possível. Um dos instrumentos mais utilizados para sua avaliação é o Teste da Torre de Londres (MALLOY-DINIZ et al., 2010).

A velocidade de processamento de informação pode ser definida como a taxa na qual as operações mentais elementares podem ser realizadas, ou a velocidade das funções mentais e motoras (BRÉBION et al., 2001). Apesar de a velocidade motora ser classificada como fazendo parte da dimensão de processamento de informação, alguns autores a consideram uma dimensão separada (MORRENS et al., 2007). A velocidade de processamento de informação pode ser medida pela tarefa de codificação de símbolos, por testes que medem a fluência verbal e pela tarefa motora das fichas (NUECHTERLEIN, 2004).

### **2.1.5.2. Formas de medição das alterações cognitivas na esquizofrenia**

Pode-se avaliar a função cognitiva dos pacientes com esquizofrenia através de três estratégias principais: (1) testes neurofisiológicos; (2) testes neuropsicológicos; e (3) medidas co-

primárias. Os testes neurofisiológicos registram os mecanismos neurais relacionados às respostas cognitivas. Os testes neuropsicológicos avaliam domínios cognitivos, tais como memória, atenção e velocidade de processamento, por meio de baterias de testes. Enquanto as medidas co-primárias são escalas que avaliam os domínios cognitivos indiretamente, através de perguntas a respeito do desempenho do paciente em tarefas do dia-a-dia. As três abordagens serão utilizadas no presente trabalho. Com isso, pretendemos obter uma avaliação mais ampla da função cognitiva, com medidas teoricamente mais próximas dos substratos neurobiológicos, medidas intermediárias e medidas mais relacionadas ao funcionamento dos pacientes no mundo real.

Os testes neurofisiológicos avaliam a atividade elétrica cerebral utilizando eletrodos na superfície do escalpo em repouso ou durante a realização de algum paradigma experimental. A maior vantagem destas abordagens é a alta resolução temporal, permitindo o acompanhamento de vários estágios do processamento de informação desde áreas sensoriais primárias a regiões cerebrais associativas (JAVITT et al., 2008). Diversos testes neurofisiológicos foram utilizados para avaliar os déficits cognitivos na esquizofrenia. Dentre os mais frequentemente utilizados, podemos citar o MMN, potenciais relacionados a eventos P300 e P50, inibição de pré-pulso da resposta de sobressalto (PPI) e teste de desempenho contínuo (para maiores detalhes, ver revisão de BRAFF e LIGTH, 2004).

Os potenciais evocados são obtidos através do registro das respostas aos estímulos sensoriais captadas na superfície do crânio (FRANCO, 2001). O potencial evocado cognitivo P300 é uma das medidas neurofisiológicas mais estudadas e a redução da amplitude da onda em pacientes com esquizofrenia tem sido demonstrada por diversos estudos desde a década de 1970, sendo um dos achados neurobiológicos mais replicados na doença (JEON e POLICH, 2003; BRAFF e LIGTH, 2004). A pesquisa recente aponta que o P300 seria composto por subcomponentes (P3a e P3b) que refletiriam uma cascata de processamento de informação relacionada a mecanismos de atenção e memória. A amplitude da onda estaria relacionada com a quantidade de recursos atencionais

disponíveis para a realização do teste, enquanto sua latência estaria relacionada à velocidade da função mental. Mais especificamente, a onda do P300 seria o registro do funcionamento de dois circuitos neurais distintos. Seu primeiro subcomponente, o P3a, estaria relacionado com a ativação de circuitos atencionais frontais, responsáveis pela atenção focal e memória de trabalho, mediados pela atividade dopaminérgica. Enquanto que o segundo subcomponente, P3b, indicaria o funcionamento de circuitos têmporo-parietais, relacionados com a ativação de recursos atencionais adicionais que promoveriam processos de memória nestas regiões e seriam modulados pela atividade noradrenérgica (POLICH, 2007).

A neuropsicologia preocupa-se com a complexa organização cerebral e suas relações com o comportamento e a cognição, tanto nas doenças quanto no desenvolvimento normal. A avaliação neuropsicológica consiste no método de investigar as funções cognitivas e o comportamento. Trata-se da aplicação de técnicas de entrevista, exames quantitativos e qualitativos das funções que compõe a cognição abrangendo processos de atenção, percepção, memória, linguagem e raciocínio (MÄDER-JOQUIM, 2010). Vários estudos têm demonstrado correlações específicas de determinados déficits verificados em testes neuropsicológicos com diversas dimensões da vida dos pacientes com esquizofrenia, tais como desempenho em atividades diárias em casa e na comunidade, aquisição de habilidades psicossociais e instrumentais, reinserção no trabalho e independência (GREEN et al, 2004). Assim, é cada vez mais aceita a ideia de que a recuperação destes pacientes deve ir além do controle de sintomas positivos e negativos. A melhora cognitiva pode ser o elemento crítico para se atingir a recuperação. Daí o esforço para conhecer quais são os déficits cognitivos, qual o significado funcional desses déficits e qual o melhor tratamento para os mesmos. Isso se faz sobretudo por meio de testes neuropsicológicos.

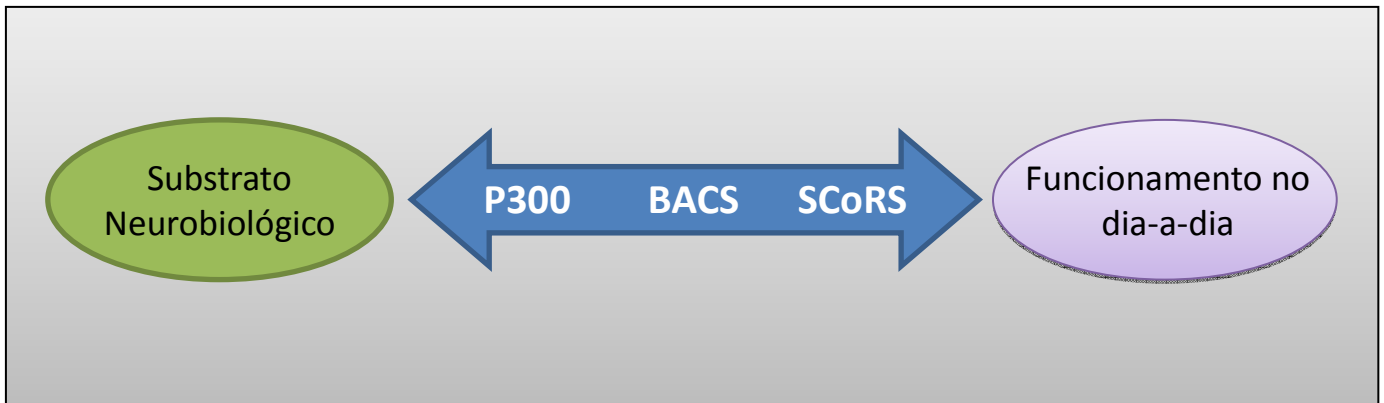
A avaliação cognitiva por meio de testes neuropsicológicos pode ser criticada por sua pouca validade fenomenológica e por questionamentos sobre sua generalização para o cotidiano dos pacientes. Em outras palavras, há dúvidas se o desempenho dos pacientes em testes feitos em

laboratório reflete exatamente as dificuldades cognitivas que estes experimentam no dia-a-dia. Nesse sentido, o desenvolvimento de medidas cognitivas mais próximas da vida real, as chamadas medidas co-primárias, tem sido incentivado. O MATRICS, por indicação da Food and Drug Administration (FDA) tem procurado incluir medidas desse tipo em seu protocolo (GREEN et al, 2008). Uma possibilidade de abordagem de medidas co-primárias pode ser a avaliação de habilidades cognitivas baseada em entrevista. Essa abordagem, entretanto, é prejudicada por evidências de que os pacientes, e mesmo pessoas saudáveis, tem dificuldade em estimar o próprio desempenho cognitivo. Recentemente, contudo, foram propostas algumas escalas que incorporam além da avaliação do paciente, a avaliação de um familiar/cuidador e também a avaliação do médico (KEEFE et al, 2006; VENTURA et al, 2008). Estas escalas têm mostrado boa correlação com testes de desempenho cognitivo (inclusive a MCCB e a BACS) e medidas de funcionamento no mundo real. Assim, as medidas co-primárias se apresentam como instrumentos promissores na avaliação cognitiva dos pacientes (SALGADO, 2008).

Pode-se distribuir as três formas de avaliação da função cognitiva ao longo de um *continuum*, com instrumentos que medem os processos cognitivos mais próximos da medição de seus substratos neurobiológicos (ex.: potencial evocado cognitivo P300), instrumentos intermediários (ex.: BACS) e instrumentos que avaliam o desempenho cognitivo em situações mais próximas do mundo real (ex.: SCoRS). Os três instrumentos citados serão explicados em mais detalhes na seção de métodos. A figura 1 ilustra este conceito.



**FIGURA 01. Os testes neurofisiológicos, neuropsicológicos e as medidas co-primárias podem ser localizadas em um *continuum*.**



## 2.2. Sistema endocanabinóide

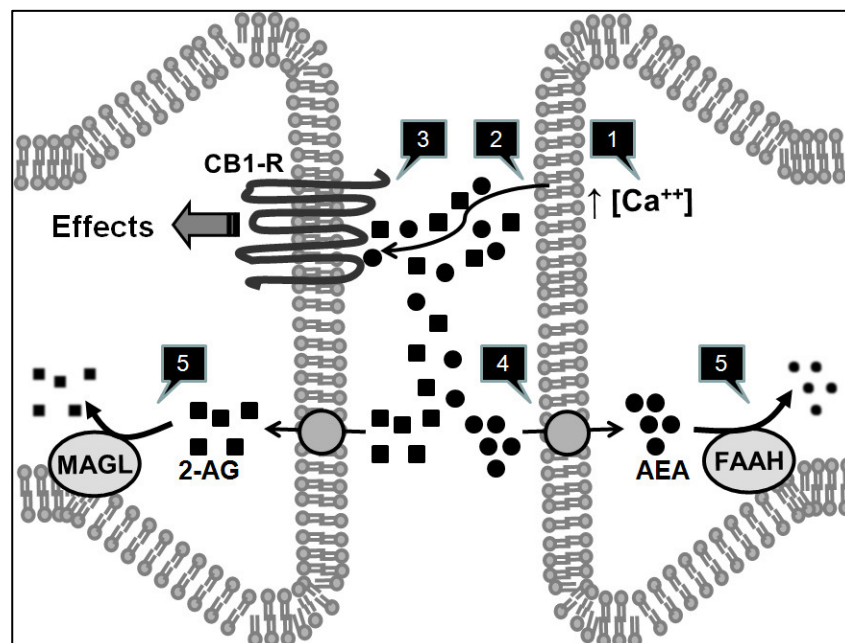
O estudo do sistema endocanabinóide, um sistema neurotransmissor descoberto e caracterizado nas últimas duas décadas do século passado (DE FONSECA et al., 2005), pode auxiliar no avanço do conhecimento a respeito da neurobiologia dos déficits cognitivos característicos da esquizofrenia.

### 2.2.1. Fisiologia

O sistema endocanabinóide (SEC) é um sistema neurotransmissor lipídico que exerce importante função moduladora sobre a neurotransmissão sináptica e interage com outros sistemas de neurotransmissores. É composto por ligantes endógenos (endocanabinóides), dois receptores principais (CB1 e CB2) e enzimas envolvidas na síntese e degradação dos componentes. Os principais endocanabinóides são a anandamida (araquidonoil etanolamina, AEA) e o 2-araquidonoil glicerol (2-AG), que são transmissores lipídicos derivados do ácido araquidônico da membrana celular. A AEA é formada pela clivagem de um precursor fosfolipídico, o N-araquidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE), uma reação catalisada pela fosfolipase D específica (PLD). A formação do 2-AG, um monoglicerídeo, é associada com o metabolismo do triacilglicerol, via ativação da fosfolipase C fosfatidil-inositol específica. Uma vez formados, os

endocanabinóides ligam-se aos receptores endocanabinóides da mesma célula que os produziu ou podem ser liberados no espaço extracelular onde podem atingir os terminais pré-sinápticos (PIOMELI, 2003; DE FONSECA et al., 2005). A ação dos endocanabinóides é limitada por dois mecanismos complementares. Primeiro, são recaptados por um transportador específico e logo em seguida são degradados por duas enzimas: hidrolase de ácidos graxos (fatty acid amide hydrolase, FAAH), que degrada a AEA, e a lipase monoacilglicerol (monoacylglyceride lipase, MAGL), que degrada o 2-AG (DE FONSECA et al., 2005; FERNANDEZ-ESPEJO et al., 2009; KANO et al., 2009). A figura 2 ilustra estes mecanismos fisiológicos.

**FIGURA 02. Uma visão simplificada do sistema endocanabinoide, seus principais componentes e mecanismos.** Os endocanabinoides anandamida (AEA) e 2-araquidonoil glicerol (2-AG) são sintetizados a partir da membrana dos neurônios pós-sinápticos após o influxo de cálcio [1]. Eles se propagam para a fenda sináptica [2] e atuam principalmente por meio do receptor CB1R nos terminais pré-sinápticos [3]. As ações dos endocanabinóides são limitadas por processos de recaptação [4] para neurônios pós e pré-sinápticos para AEA e 2-AG, respectivamente. A AEA é quebrada por uma enzima chamada amida hidrolase de ácido graxo (FAAH), enquanto que o 2-AG é metabolizado pela enzima chamada lipase monoacilglicerol (MAGL) [5]. Adaptado de FERRETJANS et al., 2012.



Os receptores endocanabinóides pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G. A maior parte da expressão do CB1R ocorre no SNC, em neurônios e células da glia, mas também foi localizado em tecidos periféricos, tais como testículos, microcirculação e sistema endócrino (DE FONSECA et al., 2005). As áreas cerebrais que mais expressão CB1R são o hipocampo, córtex cingulado e entorrinal, giro frontal, complexo amigdalóide, substância negra e regiões do cerebelo. Em nível celular, os CB1R estão presentes em neurônios gabaérgicos e glutamatérgicos (DE FONSECA et al., 2005; FRIDE, 2005; BREIVOGEL e SIM-SELLEY, 2009). Por outro lado, o CB2R apresenta maior expressão em tecidos e células imunes periféricas, mas recentemente estudos em modelos animais também o identificaram, embora em menor quantidade que o CB1R, em áreas do SNC, tais como áreas corticais, estriado, hipocampo, amígdala, cerebelo e tronco encefálico (DE FONSECA et al., 2005; ONAIVI et al., 2008).

O SEC exerce importantes funções modulatórias sobre diversos sistemas fisiológicos. No SNC, participa de mecanismos de modulação da neurotransmissão gabaérgica e glutamatérgica e plasticidade sináptica. Os processos de plasticidade sináptica de curto prazo são importantes para a coordenação do fluxo de informações em redes neurais, enquanto as de longo prazo tem papel importante na consolidação e remodelamento das sinapses. De forma geral, o SEC otimiza a comunicação sináptica através da eliminação do fluxo de informação em sinapses específicas, garantindo assim um ajuste fino do processamento de informação em circuitos neurais. No hipocampo, os processos de plasticidade sináptica modulados pelo SEC têm importante participação nos mecanismos de aprendizagem e consolidação e extinção de memórias, enquanto que no cerebelo e núcleos da base regulam circuitos envolvidos com a aprendizagem implícita e rotinas motoras. No *nucleus accumbens*, participa da modulação do sistema de recompensa e comportamentos motivados através da modulação da neurotransmissão dopaminérgica. Na amígdala, é importante no processo de extinção de memórias aversivas e do medo condicionado (DE FONSECA et al., 2005; FRIDE, 2005; KANO et al., 2009).

Além disso, o SEC tem participação na modulação de mecanismos nociceptivos, de processamento visual, do controle do apetite, da microcirculação, de modulação do sistema imune e é importante para os processos de neurodesenvolvimento (DE FONSECA et al., 2005; FRIDE, 2005; DE PETROCELLIS e DI MARZO, 2009; KANO et al., 2009; SAITO et al., 2012).

### **2.2.2. Evidências de relação entre a esquizofrenia e o sistema endocanabinóide**

Quatro linhas de evidência apontam para o envolvimento de SEC na fisiopatologia da esquizofrenia: (1) estudos que avaliaram a relação entre consumo de cannabis e esquizofrenia; (2) estudos que avaliaram polimorfismos genéticos de elementos do SEC; (3) estudos que identificaram alterações de expressão de CBRs no SNC; e (4) estudos que identificaram alterações centrais e periféricas nos níveis de endocanabinóides (UJIKE e MORITA, 2004; COHEN et al., 2008; MÜLLER-VAHL e EMRICH, 2008; FERNANDEZ-ESPEJO et al., 2009; SEWELL et al., 2009; PAROLARO et al., 2010). Uma revisão sistemática sobre as alterações do SEC na esquizofrenia foi publicada recentemente por nosso grupo (FERRETJANS et al., 2012) e está disponível no anexo.

A relação entre o uso de cannabis e esquizofrenia é conhecida há décadas. Há evidências substanciais de que o consumo de cannabis é um fator de risco para o desenvolvimento de psicose em sujeitos geneticamente predispostos, pode levar a evolução desfavorável de pacientes portadores de esquizofrenia e pode afetar o desenvolvimento cerebral durante a adolescência, aumentando o risco de esquizofrenia na idade adulta (VAN OS et al., 2002; STEFANIS et al. 2004; VERDOUX e TOURNIER 2004; MOORE et al., 2007). A intoxicação aguda pela cannabis pode levar a sintomas semelhantes a estados psicóticos: confusão, delírios paranóides, alucinações, embotamento afetivo, ansiedade e agitação (D'SOUZA et al. 2004). O consumo crônico pode se associar a efeitos similares aos sintomas negativos da esquizofrenia, tais como embotamento afetivo, falta de espontaneidade, retardo psicomotor e retraimento emocional (SEWELL et al., 2009).

Diversos estudos identificaram polimorfismos de elementos do SEC em pacientes com a doença. Polimorfismos do gene do CB1R foram relacionados tanto com predisposição ao subtipo hebefrênico da esquizofrenia, quanto com menor risco de psicose e melhor resposta a antipsicóticos (UJIKE et al., 2002; CHAVARRÍA-SILES et al., 2008; HAMDANI et al., 2008). Dois polimorfismos do gene que codifica o CB2R também foram associados à esquizofrenia (ISHIGURO et al., 2010).

Além disso, muitas evidências apontam para alterações de elementos do SEC em pacientes com esquizofrenia ou modelos experimentais da doença. Estudos que avaliaram a expressão de CB1R em regiões córtico-límbicas de pacientes em relação aos controles mostraram resultados contraditórios, mas sustentam a hipótese de que existe uma alteração da regulação da expressão de CB1R em áreas cerebrais envolvidas com a esquizofrenia (DEAN et al., 2001; ZAVITSANOU et al., 2004; NEWELL et al., 2006; KOETHE et al., 2007; EGGAN et al., 2008; URIGÜEN et al., 2009; CECCARINI et al., 2010; EGGAN et al., 2010; WONG et al., 2010; DALTON et al., 2011). Níveis aumentados de anandamida foram identificados no líquido dos pacientes durante o período pré-mórbido (KOETHE et al., 2009) e também na fase sintomática da esquizofrenia e foi sugerido que o aumento do endocanabinóide seria um mecanismo compensatório e protetor contra o estado hiperdopaminérgico característico da psicose (GIUFFRIDA et al., 2004). Estudos em modelos animais demonstraram que a administração de canabinóides exógenos altera medidas neurofisiológicas de filtragem sensorial (DISSANAYAKE et al. 2008; FERNANDEZ-ESPEJO et al. 2009).

Um aspecto importante da relação entre canabinóides e esquizofrenia, e que é central para a realização do presente trabalho, é a semelhança entre os prejuízos cognitivos encontrados em usuários de cannabis e os déficits cognitivos dos pacientes com esquizofrenia, o que aponta na direção de um possível substrato fisiopatológico comum entre os dois fenômenos. O uso agudo de cannabis está associado a prejuízos cognitivos transitórios. O consumo crônico e pesado pode estar

associado com déficits de memória, atenção sustentada e funções executivas, os quais são muito similares aos encontrados nos pacientes com esquizofrenia. A exposição pré-natal ou na adolescência tem mais chance de ocasionar as alterações cognitivas (SOLOWIJ et al., 2002; SOLOWIJ e MICHIE, 2007; SEWELL et al. 2009). Evidência crescente aponta para a estreita relação modulatória do SEC sobre outros sistemas de neurotransmissores que sabidamente estão envolvidos nos processos cognitivos, tais como dopaminérgico, glutamatérgico e gabaérgico (SOLOWIJ e MICHIE, 2007; SEWELL et al. 2009). Maior densidade do receptor CB1 no córtex pré-frontal dorso-lateral, área envolvida nos processos cognitivos, também fortalece a relação (SOLOWIJ e MICHIE, 2007). Como citado anteriormente, polimorfismo do gene do receptor CB1 foi associado a maior risco de esquizofrenia hebefrênica, o subtipo da doença que está mais associado a alterações cognitivas. Portanto, evidências neuropsicológicas, neuroquímicas, neuropatológicas e genéticas apontam para a estreita relação do SEC com processos cognitivos e para sua possível contribuição para o desenvolvimento dos déficits cognitivos na esquizofrenia.

Deste modo, o entendimento das alterações do SEC em pacientes com esquizofrenia é relevante para o conhecimento dos determinantes fisiopatológicos dos déficits cognitivos presentes na doença e pode contribuir para o futuro desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

### **2.3. O sistema endocanabinóide em linfócitos periféricos como espelho das alterações centrais**

Um volume crescente de evidências aponta para as relações estreitas entre o sistema nervoso central e o sistema imune (ADER, 2000; ALVES e PALERMO-NETO, 2005), com os linfócitos exercendo papel central nesta interação. Numerosos estudos mostraram similaridades entre expressão de receptores e outros mecanismos fisiológicos celulares entre as células nervosas (neurônios e células da glia) e linfócitos. Em diversas doenças neuropsiquiátricas, alterações de metabolismo e funções celulares no SNC, como também alterações em sistemas endócrinos e de

neurotransmissão são concomitantes com alterações de função e metabolismo de linfócitos periféricos (GLADKEVICH et al., 2004).

Os linfócitos são um grupo celular com papel central na resposta imune. Dividem-se em linfócitos B e linfócitos T, que são responsáveis pela resposta imune adaptativa e utilizam receptores de antígenos em sua superfície para executar uma resposta imune direcionada e específica. Os linfócitos T são compostos pelos linfócitos T auxiliares ou T “helper” (que apresentam o marcador de superfície CD4 e se subdividem em tipo 1 e tipo2) e T citotóxicos (que apresentam o marcador de superfície CD8). Os linfócitos T totais (representados pelas populações de linfócitos Th e Tc) podem ser distinguidos por apresentam o marcador de superfície CD3. Os linfócitos B secretam imunoglobulinas, os anticorpos antígeno-específicos responsáveis pela eliminação de microrganismos extracelulares. Os linfócitos T auxiliam as células B a produzirem anticorpos e também erradicam patógenos intracelulares pela ativação de macrófagos e ação citotóxica direta em células infectadas por vírus. Além destes dois subgrupos, as células “natural killers” (NK) têm propriedades citotóxicas e participam da imunidade inata (DELVES e ROITT, 2000; PARKIN e COHEN, 2001).

Como citado anteriormente, o SEC é um sistema neurotransmissor com propriedades moduladoras que está presente em diversos sistemas fisiológicos, dentre eles o sistema imune. Os linfócitos periféricos possuem os mecanismos enzimáticos capazes de produzir, transportar e degradar a AEA, além de expressarem os receptores canabinóides CB1 e CB2, ou seja, todos os componentes que formam o SEC (CENTONZE et al., 2008).

Há evidências de que alterações de elementos do SEC periféricos espelhariam alterações centrais deste sistema em diversas doenças neuropsiquiátricas, dentre as quais a esquizofrenia. Neste contexto, elementos do SEC periférico foram dosados no soro de pacientes com esquizofrenia na fase aguda e após estabilização com antipsicóticos. Foi identificada a redução do nível de anandamida e dos RNAm que codificam o receptor CB2 e a FAAH (enzima responsável pela

degradação da anandamida) após estabilização. Estes achados indicam que o SEC pode estar alterado na esquizofrenia não só no sistema nervoso central, mas também no sangue periférico (DE MARCHI et al.; 2003; CENTONZE et al., 2008). Assim, elementos do SEC nas células imunes periféricas podem servir como elementos diagnósticos não invasivos das alterações centrais desse sistema na esquizofrenia.



### **3. OBJETIVOS E HIPÓTESES**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a relação entre desempenho cognitivo e marcadores periféricos do SEC em pacientes com esquizofrenia estabilizados e controles.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- (1) Avaliar o desempenho cognitivo dos pacientes por meio da aplicação de um teste neurofisiológico (potencial evocado cognitivo P300), de uma bateria neuropsicológica (BACS) e de uma medida co-primária (SCoRS).
- (2) Avaliar o desempenho cognitivo dos controles por meio da aplicação de uma bateria neuropsicológica (BACS) e de uma medida co-primária (SCoRS).
- (3) Avaliar a expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK do sangue periférico dos pacientes e controles.
- (4) Comparar pacientes e controles em relação aos aspectos sócio-demográficos, desempenho cognitivo (BACS e SCoRS) e expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R).
- (5) Correlacionar o desempenho cognitivo dos pacientes (P300, BACS e SCoRS) com a expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK.
- (6) Correlacionar as variáveis clínicas (sintomas positivos, negativos, depressivos, sintomas extrapiramidais e quantidade de medicação antipsicótica) com a expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK.
- (7) Correlacionar o desempenho cognitivo dos controles (BACS e SCoRS) com a expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK.

### **3.3. Hipóteses**

Com base nos resultados esperados, podemos aventar as seguintes hipóteses:

- (1) O desempenho cognitivo dos pacientes com esquizofrenia será inferior do que o dos controles.
- (2) Haverá diferença significativa entre os níveis de expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK entre pacientes com esquizofrenia e controles.
- (3) Haverá correlação significativa entre o desempenho cognitivo dos pacientes e os níveis de expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) na superfície de linfócitos e células NK.

## **4. MÉTODOS**

### **4.1. Delineamento e amostra**

Realizou-se um estudo observacional transversal com uma amostra de 53 pacientes com esquizofrenia ou transtorno correlato (transtorno delirante) estabilizados provenientes do Ambulatório de Esquizofrenia do Hospital de Ensino Instituto Raul Soares/FHEMIG e ambulatórios de psiquiatria geral, assim como 22 controles saudáveis da comunidade. O diagnóstico de esquizofrenia ou transtorno delirante foi confirmado pelos critérios do DSM-IV TR (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000) e aplicação do MINI-Plus (AMORIM, 2000). A ausência de transtorno psiquiátrico nos controles foi confirmada pela aplicação da versão resumida da mesma entrevista.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FHEMIG (COEP: 034-B/2010) e os testes foram iniciados somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos sujeitos.

### **4.2. Critérios de inclusão e exclusão**

Os critérios de inclusão dos pacientes no estudo foram: (1) idade entre 18-65 anos; (2) diagnóstico de esquizofrenia ou transtornos correlatos; e (3) estabilidade clínica, confirmada por uma pontuação menor que 19 na escala de sintomas positivos da PANSS (e menor que 4 em qualquer item dessa escala).

Os critérios de exclusão dos pacientes foram: (1) história de epilepsia, demência, trauma, tumor encefálico ou outras doenças neurológicas primárias; (2) diagnóstico de infecção pelo HIV/AIDS; e (3) preencher critérios para uso nocivo ou dependência de psicotrópicos ou diagnóstico atual de transtorno por uso de substâncias, exceto canabinóides.

O único critério de inclusão dos controles foi idade entre 18-65 anos Os critérios de exclusão foram: (1) transtorno psiquiátrico atual; (2) história de epilepsia, demência, trauma, tumor

encefálico ou outras doenças neurológicas primárias; (3) diagnóstico de infecção pelo HIV/AIDS; (4) preencher critérios para uso nocivo ou dependência de psicotrópicos ou diagnóstico atual de transtorno por uso de substâncias, exceto canabinóides.

### **4.3. Instrumentos de avaliação**

Os instrumentos utilizados para avaliação dos sujeitos foram: questionário sócio-demográfico e clínico; escalas clínicas; instrumentos de avaliação cognitiva; e instrumentos para análise do material biológico.

#### **4.3.1. Questionário sócio-demográfico e clínico**

O questionário foi desenvolvido pelos pesquisadores para a coleta de forma estruturada dos seguintes dados sócio-demográficos: nome; endereço; data da entrevista; data de nascimento; idade; naturalidade; procedência; gênero; filhos; situação conjugal; cor da pele; alfabetização; nível de escolaridade; anos de estudo; repetência escolar; com quem reside; renda familiar; número de dependentes desta renda; ocupação atual; situação previdenciária; e religião.

Além disso, coletamos os seguintes dados clínicos: diagnóstico psiquiátrico; idade de início da doença; idade de início do tratamento; número de internações; história de uso de substâncias psicoativas (tabaco, álcool, maconha, cocaína/crack e outras); medicamentos em uso; história de realização de eletroconvulsoterapia; co-morbidades clínicas e neurológicas; história psiquiátrica familiar; e dados antropométricos (peso, altura, circunferência abdominal, índice de massa corporal e pressão arterial).

### **4.3.2. Entrevista diagnóstica e escalas clínicas**

#### **4.3.2.1. Mini-International Neuropsychiatry Interview (MINI-Plus)**

O MINI é uma entrevista diagnóstica padronizada breve (15-30 minutos), compatível com os critérios do DSM-III-R/IV e da CID-10, que é destinada à utilização na prática clínica e na pesquisa em psiquiatria, e pode ser utilizada por clínicos após um treinamento rápido (de 1 a 3 horas). A versão Plus do MINI, mais detalhada, gera diagnósticos positivos dos principais transtornos psicóticos e do humor do DSM-IV (SHEEHAN et al., 1998; AMORIM, 2000).

#### **4.3.2.2. Escala da Síndrome Positiva e Negativa (PANSS)**

A PANSS é um instrumento padronizado para avaliação dos sintomas positivos e negativos, além de aspectos psicopatológicos gerais de pacientes com esquizofrenia. Pode ser aplicada de forma relativamente breve em contextos clínicos e de pesquisa, tanto para acompanhamento longitudinal, como para avaliações pontuais (KAY et al., 1987). É constituída por 30 itens e é dividida em escala positiva, negativa e geral, que avaliam, respectivamente, sintomas positivos (7 itens), negativos (7 itens) e psicopatologia geral (16 itens), com pontuações que variam de 1 a 7. A gravidade do sintoma é avaliada de acordo com sua proeminência, sua extensão e, acima de tudo com seu impacto no cotidiano e no funcionamento do paciente. A avaliação é feita através das informações do corpo clínico e da família e de uma entrevista clínica que dura entre 30 e 40 minutos (VESSONI, 1993; CHAVES E SHIRAKAWA, 1998). Neste trabalho, definiu-se estabilidade clínica como uma pontuação menor que 19 na escala de sintomas positivos da PANSS (e menor que 4 em qualquer item dessa escala).

#### **4.3.2.3. Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia**

A Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia é projetada para avaliar o nível de depressão em pessoas com esquizofrenia. A confiabilidade e validade da escala foram

posteriormente testadas em amostra separada com utilização de técnicas de análise fatorial confirmatória e análise discriminatória. A escala é projetada para revelar a presença de depressão, independentemente das outras dimensões psicopatológicas da esquizofrenia, tanto na fase aguda quanto na fase residual da patologia. É sensível a mudança, e pode ser utilizada em diferentes intervalos de tempo. É composta por 9 itens e varia de zero (ausente) a 3 (grave) (ADDINGTON et al., 1990; BRESSAN et al, 1998).

#### **4.3.2.4. Escala de efeitos extra-piramidais Simpson-Angus**

A escala Simpson-Angus (SIMPSON e ANGUS, 1970) avalia os sintomas extra-piramidais, tais como rigidez, tremor e bradicinesia, comumente associados ao uso de antipsicóticos. É composta de 10 itens com uma classificação de gravidade de zero (ausente) a 4 (grave). Cada item traz a instrução para avaliação do sintoma, bem como a especificação para avaliação da gravidade. O escore final é obtido pela soma dos itens, indicando a gravidade dos sintomas extrapiramidais (LOUZÃ NETO, 1998).

#### **4.3.2.5. Escala de Movimentos Involuntários Anormais (AIMS)**

A Escala de Movimentos Involuntários Anormais (GUY, 1976) é composta de 10 itens com gradação de zero (ausente) a 4 (grave) e tem por objetivo quantificar os movimentos anormais relacionados à discinesia tardia, um possível efeito colateral dos antipsicóticos . O escore total é obtido pela soma dos itens (LOUZÃ NETO, 1998; TONELLI et al., 2003).

### **4.3.3. Instrumentos de avaliação cognitiva**

#### **4.3.3.1. Potencial evocado cognitivo P300**

Para a realização do teste, os indivíduos foram posicionados confortavelmente em uma cadeira reclinável com orientação para manter a cabeça voltada para frente e os olhos abertos.

Previamente à aplicação do teste, propôs-se aos pacientes que o considerassem como uma espécie de jogo onde eles precisariam apertar um botão para sinalizar o aparecimento do “barulho diferente” (estímulo-alvo) ignorando os estímulos frequentes. Orientou-se que, quando sinalizassem corretamente o estímulo-alvo, estariam “ganhando pontos”. Em todos os sujeitos foi realizado um rápido pré-teste para certificação de que podiam ouvir e distinguir, sem dificuldades, os sons apresentados.

Foram aplicados estímulos auditivos biauriculares, por meio de um fone de ouvido com intensidade de 70 – 80 decibéis, com tempo “rise-fall”=10 ms, platô=100 ms e frequência de estímulo=0,3 Hz. Os estímulos frequentes, com intensidade de 1000 Hz, ocorrem 80% das vezes e os estímulos raros (estímulos-alvo), com intensidade de 2000 Hz, ocorrem em 20%, em uma sequência aleatória, técnica conhecida como paradigma auditivo “oddball” com discriminação de duas frequências tonais.

Utilizamos um aparelho NIHON – Neuropack (four mini) de 4 canais. Nos dois primeiros canais foram obtidos os registros dos estímulos frequentes e, nos dois últimos, os registros dos estímulos-alvo. Foram utilizados eletrodos de superfície posicionados nas regiões centroparietal (Cz) e frontal (Fz), de acordo com o Sistema Internacional 10-20 e seguindo as normas técnicas gerais estabelecidas pela Sociedade Americana de Eletroencefalografia, 1994. A montagem utilizada foi: Canal 1: Fz - mastóides ligados (M12) - estímulos frequentes; Canal 2: Cz - M12 - estímulos frequentes; Canal 3: Fz - M12 - estímulos raros; Canal 4: Cz - M12 - estímulos raros. A impedância máxima aceita foi 5 ohms. Utilizamos largura de banda de 1-50 Hz e o filtro de incisura de 60 Hz. O exame incluiu a média de dez registros obtidos pela apresentação do estímulo raro sendo repetido uma vez para assegurar a confiabilidade dos achados. Para análise final foi considerada a média geral dos vinte registros calculada pelo próprio programa do aparelho. O programa registra apenas a resposta ao primeiro estímulo-alvo, quando mais de um estímulo raro ocorre em sequência e não considera os estímulos-alvo quando estes inauguram o exame. Para

marcação do P300 foi considerado o terceiro pico do complexo de potenciais de longa latência ou o maior pico positivo situado entre 250-600 ms. Foram consideradas as latências de pico e todos os valores de amplitude foram medidos em relação à linha de base tendo como referência o traçado pré-estímulo. O tempo total médio de aplicação do teste foi de cerca de 30 minutos (BRAYNER, 2003).

#### **4.3.3.2. Escala Breve de Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (BACS)**

A Escala Breve de Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, BACS) foi proposta por Keefe e colaboradores (2004) como uma bateria que cobre os principais domínios cognitivos afetados na esquizofrenia, com boas propriedades psicométricas, portátil, de curta duração e fácil de administrar. Constitui-se, portanto, em uma boa opção para avaliação cognitiva rápida dos pacientes. Foi utilizada a versão brasileira da BACS, cuja sensibilidade e aplicabilidade foram recentemente validadas em nosso meio (SALGADO et al, 2007). Seu tempo total médio de aplicação é de cerca de 40 minutos. Os domínios cognitivos avaliados e as respectivas tarefas aplicadas são:

(1) Memória verbal e aprendizagem: lista de palavras

São apresentadas 15 palavras aos pacientes e a seguir é solicitado aos mesmos para dizer o máximo possível de palavras que puderem lembrar. Este procedimento é repetido 5 vezes.

Medida: rememoração verbal (número de palavras).

(2) Memória de trabalho: tarefa de sequenciamento de dígitos

São apresentados oralmente aos pacientes agrupamentos de algarismos de comprimento crescente (por exemplo, 936). É então solicitado aos mesmos que digam ao examinador os algarismos apresentados em ordem crescente, do menor para o maior. Medida: número de respostas corretas.



(3) Velocidade motora: tarefa motora com fichas

São fornecidas aos pacientes 100 fichas plásticas e lhes é pedido para colocá-las o mais rápido possível em um recipiente, ao longo de 60 segundos. Medida: número de objetos colocados no recipiente durante os 60 segundos.

(4) Fluência verbal: fluência semântica ou categorial e fluência fonética ou por letra

*Fluência semântica:* é dado aos pacientes o tempo de 60 segundos para que os mesmos nomeiem tantas palavras quanto possível dentro de uma dada categoria (ex., nome de animais). Medida: número de palavras geradas.

*Fluência de Palavras por Letra Inicial:* em duas tentativas separadas, é dado aos pacientes o tempo de 60 segundos para que gerem o maior número de palavras possíveis com uma letra específica. Medida: número de palavras geradas.

(5) Atenção e velocidade de processamento da informação: tarefa de codificação de símbolos

É apresentado aos pacientes um conjunto de símbolos e explicado como cada um dos símbolos individualmente corresponde a um dos algarismos de 1 a 9. A seguir, solicita-se aos mesmos que preencham o número correspondente abaixo de uma série de símbolos, o mais rápido possível. O limite de tempo para esta tarefa é de 90 segundos. Medida: número de itens corretos.

(6) Raciocínio e resolução de problemas: tarefa da Torre de Londres

Os pacientes devem olhar simultaneamente para duas gravuras. Cada gravura mostrará três bolas de cores diferentes organizadas em três pinos, mas as bolas estão dispostas de forma diferente em cada uma das gravuras. O paciente deve responder, então, o número mínimo de

vezes em que as bolas de uma gravura teriam que ser movidas para tornar o arranjo de bolas idêntico ao da outra gravura. Medida: número de respostas corretas.

A tabela 1 resume as tarefas e os domínios cognitivos que cada uma avalia.

**TABELA 01. Tarefas da BACS e domínios cognitivos avaliados**

<b>Tarefa</b>	<b>Domínio</b>
Lista de palavras	Memória verbal e aprendizagem
Tarefa de sequenciamento de dígitos	Memória de trabalho
Tarefa motora com fichas	Velocidade motora
Tarefa de fluência semântica e fonética	Fluência verbal
Tarefa de codificação de símbolos	Atenção e velocidade de processamento
Torre de Londres	Raciocínio e resolução de problemas

#### **4.3.3.3. Escala de Avaliação da Cognição na Esquizofrenia (SCoRS)**

A SCoRS é uma entrevista de avaliação da função cognitiva composta por 18 itens. Estes itens foram desenvolvidos para avaliar os domínios cognitivos da atenção, memória, raciocínio e solução de problemas, memória de trabalho, linguagem e habilidades motoras. Estas áreas foram escolhidas devido à severidade do prejuízo destes domínios em muitos pacientes com esquizofrenia e a demonstrada relação destas áreas com prejuízos em aspectos do funcionamento social. Cada item é dividido em uma escala de quatro pontos. Pontuações maiores refletem maior grau de prejuízo. A administração completa da SCoRS inclui duas fontes de informações distintas que originam três diferentes avaliações: uma entrevista com o paciente, uma entrevista com um informante próximo do paciente (membro da família, amigo, assistente social, etc..) e uma avaliação do entrevistador que aplicou a escala ao paciente e ao informante. A avaliação do entrevistador reflete a combinação das duas entrevistas incorporadas às suas observações sobre o paciente. Uma avaliação global é determinada após a avaliação dos 18 itens (KEEFE et al., 2006). Utilizou-se uma

versão feita por processo de tradução e retro-tradução para o Português do Brasil por Fábio Lopes Rocha, com a aprovação do autor original (FERREIRA et al., 2010).

#### **4.3.4. Instrumentos para análise do material biológico**

##### **4.3.4.1. Amostras de sangue**

Para a análise de marcadores de superfície de leucócitos (perfil fenotípico), a amostra biológica constituiu-se de 5mL de sangue total, utilizando-se EDTA como anticoagulante. As amostras foram colhidas por profissional treinado e capacitado da equipe de pesquisa, após requisição médica específica. As amostras de sangue foram encaminhadas ao Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração do Centro de Pesquisas René Rachou – Fiocruz, onde foi realizado a imunofenotipagem.

##### **4.3.4.2. Análise da expressão de CBRs em linfócitos do sangue periférico por citometria de fluxo e imunofluorescência**

A análise da expressão dos receptores canabinóides em linfócitos e células NK circulantes no contexto *ex vivo* foi realizada segundo o método recomendado pela Becton Dickinson-BD (USA), modificado como a seguir: 300µl de sangue total em EDTA foram incubados (por trinta minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz) na presença de 3µl de anticorpos monoclonais (mAbs) específicos anti-receptores canabinóides de superfície celular. Posteriormente realizou-se a lavagem com 3ml de tampão fosfato (PBS) 0,015 M, pH 7,2 contendo 0,01% de azida sódica. Após esta primeira incubação, houve a marcação dos anticorpos anti-CBs com anti-IgG FITC, seguida de mais uma lavagem com 3ml de tampão fosfato (PBS). A terceira marcação foi com anticorpos (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD19 e anti-CD16) conjugados com fluorocromos distintos (PE, PERCP, PECY5) referente a cada população celular (tabela 2). Após a terceira incubação, os eritrócitos foram lisados usando-se 3ml de solução de lise comercial, seguido

por incubação de 10 minutos. Em seguida, a suspensão de leucócitos foi lavada duas vezes com 3ml de tampão fosfato (PBS). A suspensão celular foi fixada com 200µl de solução fixadora (10g/l de paraformaldeído, 1% de cacodilato sódico, 6,65 g/l cloreto de sódio e 0,01% de azida sódica) para posterior leitura no citômetro. As quantidades e diluições dos anticorpos utilizados foram: PE=1 uL; PECY5=1,0 uL; PERCP=2,0 uL; Conjugado FITC=1:200; Anti-CB1R e CB2R=1:100. A aquisição dos dados foi feita no citômetro de fluxo FACScalibur (BD, USA). A identificação das populações celulares de interesse, bem como a determinação do valor de intensidade média de fluorescência (IMF) das populações e subpopulações celulares foi realizada utilizando-se o programa Cell Quest. A estratégia de análise utilizada é ilustrada na figura 1. Para a obtenção da IMF da população celular de interesse marcada com anticorpos, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

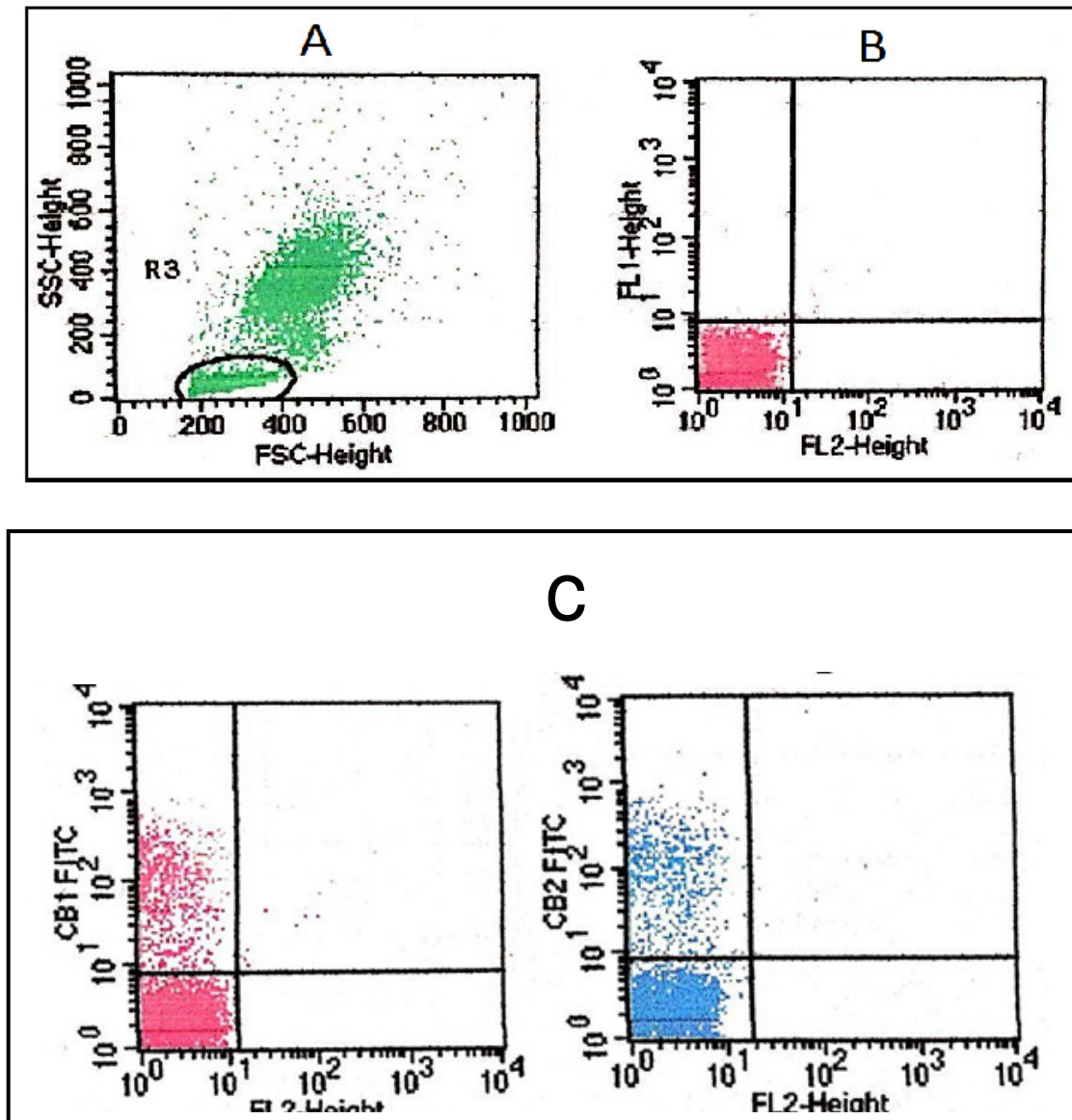
$$(1) \text{ Linfócitos totais: IMF} = (\% \text{Quadrante1} \times Y_{\text{mean1}}) + (\% \text{Quadrante3} \times Y_{\text{mean3}}) / 2$$

$$(2) \text{ Outras populações celulares: IMF} = (\% \text{Quadrante2} \times Y_{\text{mean2}}) + (\% \text{Quadrante4} \times Y_{\text{mean4}}) / 2$$

**TABELA 02. Anticorpos específicos de superfície celular utilizados para identificação de populações e de subpopulações celulares**

Anticorpos	Populações celulares
Anti-CD3 PE	Linfócitos T
Anti-CD3 PECY5	Linfócitos T
Anti-CD8 PERCP	Linfócitos T citotóxicos
Anti-CD4 PE	Linfócitos T helper
Anti-CD19 PE	Linfócitos B
Anti-CD16 PECY5	Células NK
Anti-CB1R (anticorpo primário)	Linfócitos
Anti-CB2R (anticorpo primário)	Linfócitos
Anti-IgG de coelho marcado com FITC (anticorpo secundário)	--

**FIGURA 03. Estratégia de análise utilizada para avaliação da expressão de receptores canabinóides na população de linfócitos totais.** Gráficos morfológicos (SSCxFSC) de distribuição puntual foram construídos para seleção da população de interesse (R3) de linfócitos totais (A). Gráficos de distribuição puntual para avaliação das fluorescências foram construídos a partir de R3. Controle de Isotipo (B). Gráficos de distribuição puntual representando a expressão de receptores canabinóides CB1 e CB2 em linfócitos totais (C).



#### **4.4. Desenho experimental**

Os pacientes foram avaliados em dois dias de testes, com intervalo não maior que duas semanas entre si. No primeiro dia de testes (semana 1), os pacientes realizaram os seguintes procedimentos: (1) Questionário sócio-demográfico; (2) MINI-Plus; (3) Escalas clínicas (PANSS, Calgary, AIMS e Simpson-Angus); (4) Avaliação cognitiva (P300 e SCoRS); e (5) Coleta de sangue. No segundo dia de testes (semana 2), os pacientes realizaram somente a BACS.

Os controles realizaram todos os testes em um único dia: (1) Questionário sócio-demográfico; (2) MINI; (3) Avaliação cognitiva (BACS e SCoRS); e (4) Coleta de sangue.

Apesar de originalmente desenvolvidas para uso com pacientes com esquizofrenia (KEEFE et al., 2004 e KEEFE et al., 2006), por serem de fácil aplicação, composta por testes neuropsicológicos que podem ser utilizados em pessoas normais (BACS) e por ser baseada em situações do cotidiano (SCoRS), aplicou-se os testes cognitivos também nos controles.

#### **4.5. Análise estatística**

Os resultados de variáveis contínuas foram expressos como média, desvio-padrão, mediana e faixa de variação. As variáveis categoriais foram expressas como proporções. Testes de Pearson e Spearman foram usados na análise de correlação para dados de distribuição normal e não-normal, respectivamente. A comparação de grupos e subgrupos foi realizada por Teste t ou Teste de Mann-Whitney para dados de distribuição normal e não-normal, respectivamente. Para comparação de duas ou mais variáveis categoriais entre os grupos foi realizado o teste Chi-quadrado de Pearson ou Teste exato de Fisher. Alfa foi fixado em 0,05.

Como citado anteriormente, a BACS é uma bateria de testes cognitivos que visam avaliar os domínios mais afetados na esquizofrenia. Cada tarefa conta com uma pontuação individual e não há um escore único. Com o objetivo de obter um escore cognitivo único da BACS, realizou-se a análise de componentes principais da bateria e observou-se que a primeira componente explicava

65,3% da variância. Utilizando-se a primeira componente, obteve-se um conjunto de pesos relativos a cada teste individual (lista de palavras, sequenciamento de dígitos, tarefa motora com fichas, fluência, codificação de símbolos e Torre de Londres). Para se chegar ao escore único, multiplicou-se o peso relativo ao teste individual pelo resultado obtido por cada paciente no respectivo teste. Em seguida, somaram-se os resultados das multiplicações e obteve-se um valor único de cada paciente.

Todas as análises foram realizadas por meio do Statistical Package for Social Sciences (SPSS), versão 19.

## **5. RESULTADOS**

Os resultados serão apresentados em quatro seções. Na primeira, a amostra será caracterizada, com a descrição dos dados sócio-demográficos e clínicos dos sujeitos da pesquisa (pacientes com esquizofrenia e controles) e os grupos serão comparados em relação a estas variáveis. Um subgrupo de pacientes (N=13) foi submetido ao teste de potencial evocado cognitivo P300 e suas variáveis clínicas foram comparadas com o grupo de pacientes totais para garantir a homogeneidade das duas amostras.

Na segunda seção, serão descritos os resultados da testagem cognitiva (BACS, SCoRS e P300) e dos níveis de expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos e células NK periféricas, além da comparação dos grupos em relação a estas variáveis.

Na terceira seção, serão descritas as análises de correlação entre as variáveis cognitivas e a expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos e células NK periféricas.

Na quarta seção, serão descritas as análises de correlação entre as variáveis clínicas e a expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos e células NK periféricas.

### **5.1. Análise descritiva da amostra**

As características sócio-demográficas dos pacientes e controles são apresentadas na Tabela 3. A idade média da população estudada foi de 42 anos para os pacientes e 41 anos para os controles. Pacientes não diferiram dos controles em relação à idade, gênero, cor, repetência escolar, situação conjugal e renda familiar. Entre os pacientes, somente 17,6% estavam empregados, enquanto 54,9% estavam desempregados e 25,5% aposentados. Todos os controles estavam empregados e não recebiam benefício previdenciário. Quanto à situação conjugal, a maior parte dos pacientes era solteira (68,8%), enquanto que nos controles esta proporção foi de 33,3%. Não foi possível utilizar o teste Chi-quadrado para calcular a diferença estatística das variáveis ocupação, situação previdenciária e situação conjugal devido ao tamanho reduzido do grupo controle.



Pacientes e controles diferiram significativamente em relação aos anos de estudo, que foi em média de 6 anos e meio para os pacientes e de 10 anos para os controles ( $p=0,001$ ).

A descrição dos aspectos clínicos dos pacientes é apresentada na Tabela 4. Em média, os pacientes desenvolveram a doença aos 28 anos e meio, permaneceram aproximadamente 2 anos sem tratamento (início do tratamento aos 30 anos) e foram internados 2 vezes. O tempo médio de doença foi de 13 anos e meio. Apresentavam poucos sintomas positivos (PANSS positiva=10,7), depressivos (Calgary=2,2) e sintomas extrapiramidais (Simpson-Angus=3,8 e AIMS=0,8), mas sintomas negativos moderados (PANSS negativa=19). Mais da metade dos pacientes estavam em uso de AP típicos (61,2%) e aproximadamente um terço (32,7%) em uso de AP atípicos. Somente 4,1% estavam em uso de clozapina. A dose média de AP, convertido em equivalentes de clorpromazina (GARDNER et al., 2010), foi de 344,2 mg/dia. Aproximadamente metade dos pacientes fazia uso de benzodiazepínicos (49%) e biperideno (46,9%), enquanto aproximadamente um terço estava em uso de algum antidepressivo (AD tricíclico, 10,2%; outros AD, 20,4%). Dos 53 pacientes, 51 preencheram critério para esquizofrenia e 2 para transtorno delirante, segundo os critérios do DSM-IV (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000). Como o transtorno delirante faz parte dos chamados transtornos do espectro da esquizofrenia, no presente trabalho utiliza-se o termo “pacientes com esquizofrenia” para designar o grupo geral de pacientes. Nenhum paciente fazia uso atual de cannabis ou apresentava padrão de abuso ou dependência para outra substância psicoativa.

O subgrupo de pacientes que foi submetido ao teste de potencial evocado cognitivo P300 não diferiu do grupo total de pacientes em nenhuma variável clínica, exceto quanto ao uso de biperideno, que foi maior no grupo total (46,9% x 9,1%,  $p=0,048$ ).

**TABELA 03. Caracterização sócio-demográfica da população estudada**

Característica	Pacientes (N=53)		Controles (N=21)		Valor p
	N ou Média (± DP)	Proporção (%) ou Mediana (FV)	N ou Média (± DP)	Proporção (%) ou Mediana (FV)	
<b>Gênero</b>					0,50 <sup>††</sup>
Masculino	29	54,7	9	42,9	
Feminino	24	45,3	12	57,1	
<b>Idade</b>	42,2 (±11,8)	43 (18-62)	41 (±10,9)	42 (21-58)	0,68 <sup>†††</sup>
<b>Cor da pele</b>					0,07 <sup>††</sup>
Branca	20	40,8	3	14,3	
Negra	14	28,6	10	47,6	
Parda	15	30,6	7	33,3	
Amarela	0	0	1	4,8	
<b>Anos de estudo</b>	6,4 (±4,3)	5 (0-21)	10 (±3,6)	11 (4-16)	<b>0,001**</b> <sup>†</sup>
<b>Repetência</b>	31	60,8	8	38,1	0,13 <sup>††</sup>
<b>Situação Conjugal</b>					
Solteiro	31	60,8	7	33,3	
Casado/UE	15	29,4	7	33,3	
Separado	4	7,8	7	33,3	
Viúvo	1	2	0	0	
<b>Ocupação</b>					
Empregado	9	17,6	21	100	
Desempregado	28	54,9	0	0	
Estudante	1	2	0	0	
Aposentado	13	25,5	0	0	
<b>Renda familiar (SM)</b>	2,6 (±1,6)	2 (0,5-7)	2,8 (±1,8)	2 (1-8)	0,81 <sup>†</sup>
<b>Situação previdenciária</b>					
Sem benefício	30	60	21	100	
Com benefício	8	16	0	0	
Aposentado	11	22	0	0	
Pensionista	1	2	0	0	

**Abreviações:** N = número de sujeitos; DP = desvio padrão; FV = faixa de variação; UE = união estável; SM = salário-mínimo

**Teste(s) utilizado:** <sup>†</sup> Mann-Whitney U; <sup>††</sup> Chi-quadrado de Pearson; <sup>†††</sup> Teste t

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

**TABELA 04. Características clínicas dos pacientes com esquizofrenia**

Característica	Pacientes (N=53)		Pacientes com P300 (N=13)		Valor p
	N ou	Proporção (%) ou	N ou	Proporção (%) ou	
	Média (±DP)	Mediana (FV)	Média (± DP)	Mediana (FV)	
<b>Início da doença (anos)</b>	28,6 (±13,2)	28 (8-59)	26,9 (±8,0)	28 (15-40)	0,85 <sup>†</sup>
<b>Tempo de doença (anos)</b>	13,6 (±9,7)	13 (0,5-30)	15 (±9,6)	18 (0,5-29)	0,74 <sup>†</sup>
<b>Início do tratamento (anos)</b>	30,3 (±13,2)	29 (8-60)	30,5 (±9,4)	30 (16-48)	0,79 <sup>†</sup>
<b>Internações</b>	2 (±3,1)	1 (0-15)	2,4 (±4,2)	1 (0-15)	0,37 <sup>†</sup>
<b>PANSS</b>					
Positiva	10,7 (±2,8)	10 (7-18)	10,8 (±2,9)	10 (7-16)	0,82 <sup>†</sup>
Negativa	19 (±6,6)	18 (9-35)	19,3 (±8,3)	18,5 (10-35)	0,96 <sup>†</sup>
Geral	27,3 (±6,3)	28 (18-46)	25,7 (±4,7)	26,5 (19-33)	0,40 <sup>†</sup>
Total	56,9 (±12,1)	58 (37-80)	56,3 (±13,3)	58 (37-78)	0,88 <sup>†</sup>
<b>Calgary</b>	2,2 (±2,6)	2 (0-9)	1,8 (±2,4)	1,5 (0-8)	0,70 <sup>†</sup>
<b>AIMS</b>	0,8 (±1,5)	0 (0-6)	0,7 (±1,3)	0 (0-4)	0,90 <sup>†</sup>
<b>Simpson-Angus</b>	3,8 (±4,7)	2,5 (0-24)	3,2 (±3)	3 (0-9)	1,00 <sup>†</sup>
<b>Medicações</b>					
AP típicos	30	61,2	5	45,5	0,53 <sup>††</sup>
AP típicos sedativos/prometazina	21	42,9	6	54,5	0,71 <sup>††</sup>
AP atípicos	16	32,7	3	27,3	1,0 <sup>††</sup>
Clozapina	2	4,1	2	18,2	0,15 <sup>†††</sup>
Biperideno	23	46,9	1	9,1	<b>0,048</b> <sup>*††</sup>
Benzodiazepínicos	24	49	3	27,2	0,33 <sup>††</sup>
Estabilizadores do humor	6	12,2	1	9,1	1,0 <sup>††</sup>
AD tricíclicos	5	10,2	0	0	0,57 <sup>†††</sup>
Outros AD	10	20,4	2	18,2	1,0 <sup>††</sup>
<b>Dose de AP (em equivalente de clorpromazina)</b>	344,2 (±237,9)	275 (50-1150)	394,3 (±202,32)	350 (50-769,2)	0,17 <sup>†</sup>

**Abreviações:** N = número de sujeitos; DP = desvio padrão; FV = faixa de variação; PANSS = Escala da Síndrome Positiva e Negativa; AIMS = Escala de Movimentos Involuntários Anormais ; AP = antipsicóticos; AD = antidepressivos; ECT = eletroconvulsoterapia

**Teste(s) utilizado:** <sup>†</sup> Mann-Whitney U; <sup>††</sup> Chi-quadrado de Pearson; <sup>†††</sup> Teste exato de Fisher

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

## **5.2. Resultados da testagem cognitiva e dos níveis de expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos**

Os valores dos testes cognitivos dos pacientes e controles são apresentados na Tabela 5. Na BACS, os pacientes obtiveram resultados significativamente inferiores em relação aos controles em todos os domínios avaliados, com exceção de raciocínio e resolução de problemas (tarefa da Torre de Londres). No teste de lista de palavras, os pacientes acertaram em média 27 palavras na soma das cinco repetições, enquanto os controles acertaram 36 palavras ( $p=0,004$ ). Na tarefa de sequenciamento de dígitos, os pacientes acertaram 10,3 sequências e os controles 14,6 ( $p=0,005$ ). Na tarefa motora com fichas, os pacientes colocaram corretamente no recipiente em média 49,1 fichas, enquanto os controles colocaram 68,3 fichas ( $p<0,001$ ). Na tarefa de fluência fonética ou por letra, os pacientes geraram uma média de 7,7 palavras com a letra “F” e 7 com a letra “S” e os controles 11,2 e 10,8, respectivamente ( $p=0,007$  e  $0,001$ ). Na tarefa de fluência semântica, os pacientes geraram em média 13,2 nomes de animais, enquanto os controles geraram 18,2 ( $p<0,001$ ). Na tarefa de codificação de símbolos, os pacientes acertaram em média 19 itens e os controles 34 ( $p=0,001$ ). Na Torre de Londres, os pacientes obtiveram uma média de 9,8 respostas corretas e os controles 10,8 ( $p=0,61$ ).

Na avaliação cognitiva por entrevista com o paciente e uma pessoa de sua convivência (informante), SCoRS, pontuações maiores indicam pior desempenho cognitivo. Os pacientes obtiveram pontuações totais médias de 39 (resposta do paciente), 39,3 (resposta do informante) e 43 (resposta do entrevistador). Os controles obtiveram pontuação média de 25,9 (resposta do controle). Assim como na BACS, na SCoRS os pacientes apresentaram desempenho cognitivo significativamente inferior ao dos controles ( $p<0,001$ ).

Um subgrupo de 13 pacientes foi avaliado pelo teste de potencial evocado P300, que se relaciona com a capacidade atencional (amplitude) e velocidade de processamento da informação

(latência) (POLICH, 2007). Apresentaram amplitude média da onda de 6,2 microV em Fz e 4,6 microV em Cz. As latências foram de 344,6 milissegundos em Fz e 340,1 milissegundos em Cz.

A expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos é descrita na Tabela 6. Pacientes e controles não diferiram na quantidade de expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos, exceto na expressão de CB2 em linfócitos T toais (mediana e faixa de variação: 126,89 (39-591,34) x 156,79 (102,71-255,67),  $p=0,007$ , em pacientes e controles, respectivamente).

Quanto à ordem de expressão em relação aos tipos celulares, pacientes e controles não diferiram com relação à expressão de receptor CB1: linfócitos B > células NK > linfócitos Th > linfócitos Tc. A ordem de expressão de receptor CB2 foi diferente entre os dois grupos. Nos pacientes foi a seguinte: células NK > linfócitos B > linfócitos Th > linfócitos Tc. Enquanto que nos controles foi a seguinte: linfócitos B > células NK > linfócitos Th > linfócitos Tc.

**TABELA 05. Caracterização do desempenho cognitivo**

Teste	Pacientes		Controles		Valor p
	Média (± DP)	Mediana (FV)	Média (± DP)	Mediana (FV)	
<b>BACS</b>	<b>(N=41)</b>		<b>(N=20)</b>		
Lista de palavras	27,4 (±11,6)	27 (4-63)	36 (±9,4)	36,5 (22-56)	<b>0,004**</b>
Dígito	10,3 (±5,5)	11 (0-20)	14,6 (±5,4)	15 (3-23)	<b>0,005**</b>
Fichas	49,1 (±18,9)	50 (0-94)	68,3 (±17,3)	69 (34-100)	<b>&lt;0,001**</b>
FV-A	13,2 (±4,9)	13 (2-25)	18,2 (±4,3)	19 (10-24)	<b>&lt;0,001**</b>
FV-F	7,7 (±4,6)	7 (0-18)	11,2 (±3,9)	11 (5-20)	<b>0,007**</b>
FV-S	7 (±4,2)	7 (0-18)	10,8 (±2,9)	10,5 (4-17)	<b>0,001**</b>
Símbolo	19 (±13,7)	19 (0-64)	34 (±16,9)	36 (6-67)	<b>0,001**</b>
TOL	9,8 (±6,1)	9,5 (0-22)	10,8 (±7)	10,5 (1-22)	0,61
<b>SCoRS</b>	<b>(N=50)</b>		<b>(N=20)</b>		
Total do paciente	39 (±11,3)	35,5 (22-62)	25,9 (±4,4)	25,5 (20-36)	<b>&lt;0,001**</b>
Total do informante	39,3 (±11,1)	38 (22-60)	--	--	
Total do entrevistador	43 (±11,2)	39 (28-68)	--	--	
<b>P300</b>	<b>(N=13)</b>				
Amplitude (Fz)	6,2 (±5,2)	5 (0,4-19,6)	--	--	--
Amplitude (Cz)	4,6 (±3,8)	4 (0,5-13,9)	--	--	--
Latência (Fz)	344,6 (±23,3)	340 (304-394)	--	--	--
Latência (Cz)	340,1 (±22,7)	336 (314-392)	--	--	--

**Abreviações:** N = número de sujeitos; DP = desvio padrão; FV = faixa de variação; Dígito = Tarefa de sequenciamento de dígitos; Token = Tarefa motora das fichas; FV-A = Fluência verbal - nome de animais; FV-F = Fluência verbal - letra F; FV-S = Fluência verbal - letra S; Símbolo = Tarefa de codificação de símbolos; TOL = Torre de Londres; Fz = região frontal; Cz = região centroparietal

**Teste(s) utilizado:** Mann-Whitney U

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

**TABELA 06. Expressão de CBRs em linfócitos periféricos (em intensidade média de fluorescência)**

Tipos celulares	Pacientes (N=53)		Controles (N=20)		Valor p
	Média (± DP)	Mediana (FV)	Média (± DP)	Mediana (FV)	
<b>Linfócitos totais</b>					
<b>CB1R</b>	998,96 (±764,89)	786,00 (174,83-3776,86)	1014,80 (±470,09)	905,50 (524,90-2300,17)	0,25
<b>CB2R</b>	1061,79 (±920,88)	834,83 (179,73-5200,10)	1096,48 (±441,23)	1028,28 (492,63-2189,90)	0,11
<b>Linfócitos T totais</b>					
<b>CB1R</b>	160,97 (±119,09)	131,16 (55,15-661,32)	142,36 (±50,03)	125,49 (86,49-296,31)	0,69
<b>CB2R</b>	146,83 (±92,25)	126,89 (39-591,34)	165,99 (±40,81)	156,79 (102,71-255,67)	<b>0,007**</b>
<b>Linfócitos Th</b>					
<b>CB1R</b>	160,57 (±125,96)	119,42 (44,59-598,86)	132,67 (±61,56)	108,46 (57,79-282,22)	0,92
<b>CB2R</b>	175,15 (±166,34)	118,53 (44,08-848,82)	160,49 (±46,21)	157,69 (78,47-255,72)	0,06
<b>Linfócitos Tc</b>					
<b>CB1R</b>	74,41 (±72,26)	45,07 (16,57-337,43)	64,21 (±59,55)	41,53 (15,49-290,78)	0,51
<b>CB2R</b>	69,55 (±65,62)	45,07 (17,24-331,76)	63,33 (±24,64)	65,20 (21,49-109,12)	0,22
<b>Linfócitos B</b>					
<b>CB1R</b>	679,87 (±603,08)	574,19 (13,39-2885,94)	722,68 (±498,16)	586,71 (160,17-2519,72)	0,39
<b>CB2R</b>	689,52 (±614,19)	552,53 (26,57-3536,13)	799,35 (±435,95)	757,62 (249,05-1915,77)	0,12
<b>Células NK</b>					
<b>CB1R</b>	644,23 (±706,08)	334,08 (139,79-3663,01)	447,87 (±238,80)	395,18 (213,12-1181,40)	0,70
<b>CB2R</b>	729,15 (±823,39)	413,44 (148,28-4040,09)	489,72 (±283,43)	426,67 (159,90-1490,08)	0,85

**Abreviações:** N = número de sujeitos; DP = desvio padrão; FV = faixa de variação; Th = linfócitos T auxiliares; Tc = linfócitos T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonóide CB1 = receptor endocanabonóide CB1; CB2R = receptor endocanabonóide CB2

**Teste(s) utilizado:** Mann-Whitney U

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

### **5.3. Análise de correlação entre expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos e variáveis cognitivas**

Com o objetivo de avaliar evidências da participação do SEC na fisiopatologia dos déficits cognitivos na esquizofrenia, foram realizadas correlações entre o desempenho cognitivo dos sujeitos e a expressão de receptores endocanabinóides (CB1R e CB2R) em linfócitos e células NK periféricas. O desempenho cognitivo foi avaliado através de uma medida neurofisiológica (P300), de uma bateria neuropsicológica (BACS) e uma medida co-primária (SCoRS). Os resultados da avaliação cognitiva serão apresentados para os pacientes e controles, exceto para o teste de potencial evocado cognitivo P300, que foi realizado somente nos pacientes.

#### **5.3.1. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pelo potencial evocado cognitivo P300**

A correlação entre a expressão de CB1R e CB2R em linfócitos e a amplitude e a latência da onda P300 em Cz e Fz é descrita na tabela 7. Houve correlação significativa entre os níveis de expressão de CB2R em linfócitos Tc e a amplitude da onda P300 medida em Cz nos pacientes ( $\rho = -0,71$  e  $p = 0,006$ ). No gráfico 1, observa-se que o aumento da expressão de CB2R se correlacionou com a redução da amplitude da onda do P300 nos pacientes. Como citado anteriormente, a redução da amplitude da onda P300 indica pior capacidade atencional. A mesma análise foi refeita sem os dois valores mais altos de expressão de CB2R (outliers) e a correlação manteve-se significativa ( $\rho = -0,67$  e  $p = 0,02$ ), como demonstrado no gráfico 2.



**TABELA 07. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e P300 nos pacientes (valores de rho e p)**

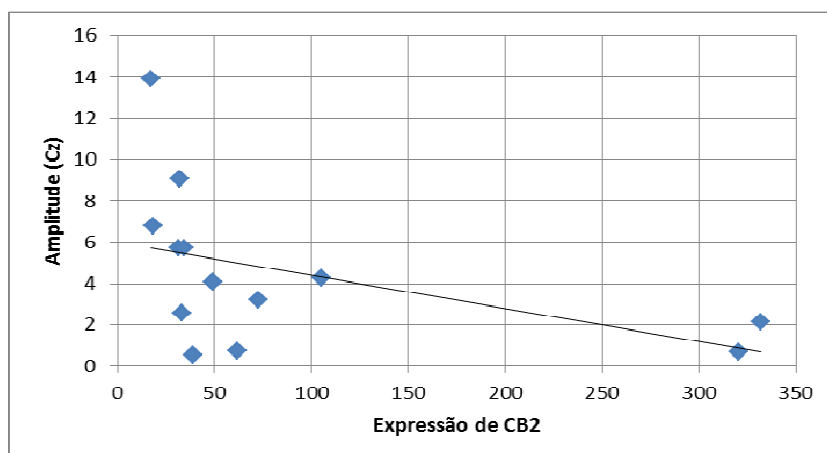
Tipos celulares	P300 (N=13)			
	Amplitude (Fz)	Amplitude (Cz)	Latência (Fz)	Latência (Cz)
<b>Linfócitos totais</b>				
CB1R	- 0,22 0,46	- 0,49 0,09	0,36 0,22	0,37 0,22
CB2R	- 0,03 0,93	- 0,39 0,19	0,26 0,39	0,06 0,84
<b>Linfócitos T totais</b>				
CB1R	- 0,04 0,90	- 0,33 0,27	0,53 0,06	0,32 0,28
CB2R	0,007 0,98	- 0,19 0,56	0,33 0,30	0,17 0,60
<b>Linfócitos Th</b>				
CB1R	- 0,16 0,62	- 0,46 0,134	0,38 0,22	0,33 0,29
CB2R	- 0,12 0,69	- 0,45 0,13	0,41 0,16	0,33 0,30
<b>Linfócitos Tc</b>				
CB1R	- 0,15 0,63	- 0,45 0,12	0,50 0,08	0,33 0,26
CB2R	- 0,48 0,10	<b>- 0,71</b> <b>0,006**</b>	<b>0,66</b> <b>0,01*</b>	0,49 0,08
<b>Linfócitos B</b>				
CB1R	0,06 0,84	- 0,18 0,55	0,13 0,67	0,33 0,27
CB2R	- 0,03 0,93	- 0,30 0,31	0,18 0,55	0,36 0,22
<b>Células NK</b>				
CB1R	- 0,29 0,34	- 0,38 0,20	0,25 0,41	0,23 0,46
CB2R	- 0,30 0,32	- 0,44 0,13	0,27 0,37	0,14 0,65

**Abreviações:** N = número de sujeitos; Fz = eletrodo da região frontal; Cz = eletrodo da região centroparietal; Th = linfócitos T auxiliares; Tc = linfócitos T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonóide CB1; CB2R = receptor endocanabonóide CB2

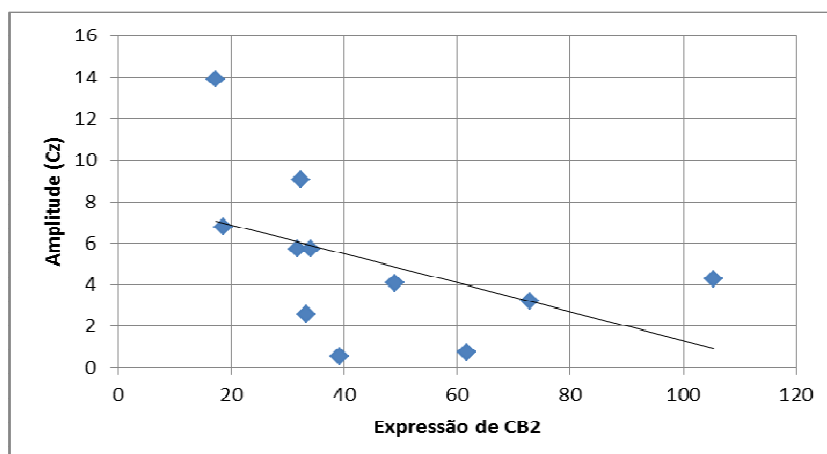
**Teste(s) utilizado:** Correlação de Spearman

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

**GRÁFICO 01. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e amplitude do P300 (N=13) ( $\rho = -0,71$ ,  $p = 0,006$ )**

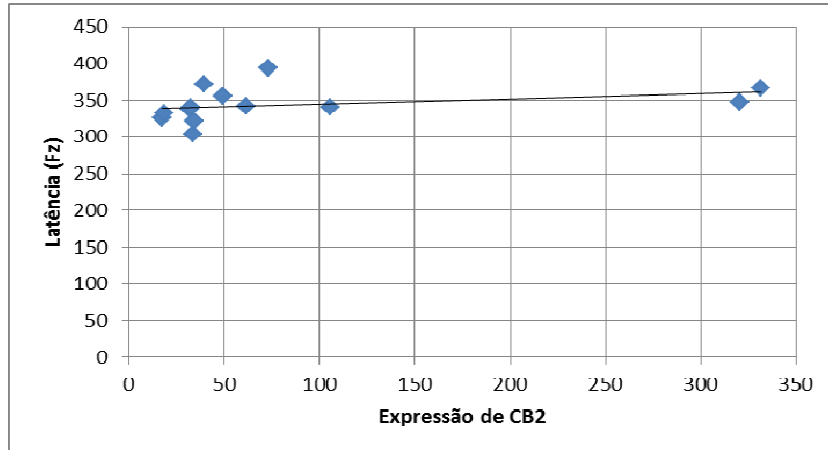


**GRÁFICO 02. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e amplitude do P300 – sem outliers (N=11) ( $\rho = -0,67$ ,  $p = 0,02$ )**

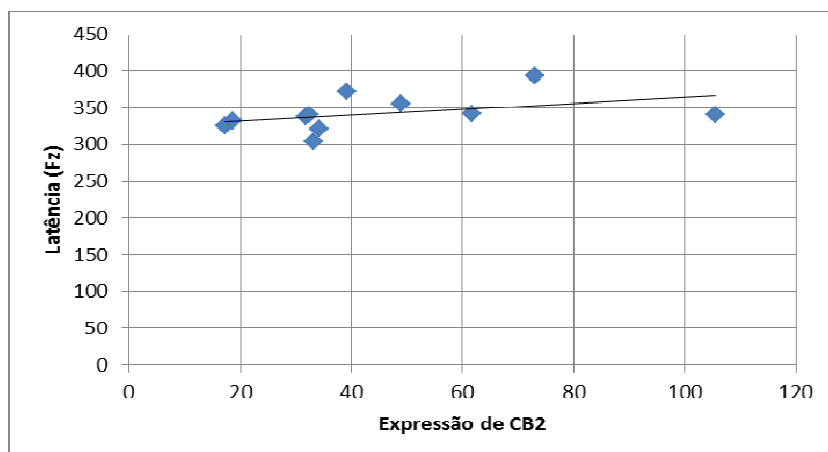


Da mesma forma que com a amplitude, houve correlação significativa entre a expressão de CB2R em linfócitos Tc e a latência da onda P300 ( $\rho=0,66$  e  $p=0,014$ ). O aumento da latência está relacionado à menor velocidade de processamento de informação. O gráfico 3 demonstra que quanto maior a expressão de CB2R, maior a latência da onda. A análise sem os outliers também foi realizada e a correlação se manteve significativa ( $\rho=0,62$  e  $p=0,04$ ), como demonstrado no gráfico 4.

**GRÁFICO 03. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e latência do P300 (N=13) ( $\rho = 0,66$ ,  $p = 0,01$ )**



**GRÁFICO 04. Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e latência do P300 – sem outliers (N=11) ( $\rho = 0,62$ ,  $p = 0,04$ )**



### **5.3.2. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pela BACS**

A correlação entre expressão de CBR e o desempenho cognitivo dos pacientes medido pela BACS (escore geral) é demonstrado na tabela 8. Optou-se por utilizar o escore geral, e não os resultados das tarefas individuais, para evitar a ocorrência de associações ao acaso, o que pode ser um problema quando se realiza correlações múltiplas.

Não houve correlação significativa entre a expressão de CBR em linfócitos e o desempenho cognitivo medido pela BACS (escore geral) tanto nos pacientes, quanto nos controles.

**TABELA 08. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e BACS (escore geral) nos pacientes e controles (valores de rho e p)**

Tipos celulares	BACS (escore geral)	
	Pacientes	Controles
<b>Linfócitos totais</b>		
<b>CB1R</b>	- 0,03	0,27
	0,85	0,25
<b>CB2R</b>	- 1,0	0,36
	0,55	0,12
<b>Linfócitos T totais</b>		
<b>CB1R</b>	- 0,06	0,01
	0,72	0,96
<b>CB2R</b>	0,04	0,17
	0,82	0,46
<b>Linfócitos Th</b>		
<b>CB1R</b>	- 0,19	0,32
	0,26	0,17
<b>CB2R</b>	0,03	0,12
	0,87	0,61
<b>Linfócitos Tc</b>		
<b>CB1R</b>	0,08	- 0,12
	0,64	0,64
<b>CB2R</b>	0,08	- 0,31
	0,61	0,20
<b>Linfócitos B</b>		
<b>CB1R</b>	- 0,01	0,10
	0,93	0,66
<b>CB2R</b>	0,03	0,15
	0,85	0,54
<b>Células NK</b>		
<b>CB1R</b>	0,04	0,006
	0,79	0,98
<b>CB2R</b>	0,04	0,17
	0,80	0,47

**Abreviações:** N = número de sujeitos; BACS = Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia; Th = T auxiliares; Tc = T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonóide CB1 = receptor endocanabonóide CB1; CB2R = receptor endocanabonóide CB2

**Teste(s) utilizado:** Correlação de Spearman

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

### **5.3.3. Correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo medido pela SCoRS**

Os valores da correlação entre expressão de CBR e escores totais da SCoRS dos pacientes são apresentados na tabela 9. Houve correlação significativa entre expressão de CB2R em linfócitos Th e Tc e desempenho cognitivo dos pacientes na entrevista com um informante ( $\rho=0,39$  e  $p=0,01$ ). Na SCoRS, quanto maior a pontuação, pior o desempenho cognitivo, portanto, maior expressão de CB2R associou-se com pior desempenho cognitivo geral (gráficos 5 e 6). A análise foi refeita após a retirada dos valores extremos de expressão de CB2R e as correlações mantiveram-se significativas para linfócitos Th ( $\rho=0,37$  e  $p=0,02$ ) e Tc ( $\rho=0,38$  e  $p=0,01$ ), como pode ser visualizado nos gráficos 7 e 8.

Também houve associação significativa, mas de forma inversa, entre os níveis de expressão de CBR e pontuação na SCoRS nos controles (tabela 10). Diferentemente dos pacientes, a entrevista foi realizada somente com os controles, pois em teoria estes sujeitos não apresentariam as dificuldades cognitivas que poderiam influenciar as respostas e justificar a necessidade da opinião de um informante e do entrevistador como é o caso dos pacientes com esquizofrenia. Os níveis de expressão de CB1R em linfócitos Th se associaram de forma significativa ao escore total da SCoRS ( $\rho= - 0,51$  e  $p=0,02$ ), ou seja, quanto maior a expressão de CB1R, melhor o desempenho cognitivo (gráfico 9).

**TABELA 09. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e SCoRS nos pacientes (valores de rho e p)**

Tipos celulares	SCoRS		
	Total paciente (N=50)	Total informante (N=42)	Total entrevistador (N=41)
<b>Linfócitos totais</b>			
CB1R	0,12 0,42	0,29 0,07	0,17 0,31
CB2R	0,13 0,36	0,25 0,13	0,12 0,45
<b>Linfócitos T totais</b>			
CB1R	0,03 0,85	0,22 0,18	0,21 0,22
CB2R	- 0,09 0,56	0,13 0,43	0,07 0,65
<b>Linfócitos Th</b>			
CB1R	0,11 0,47	0,28 0,08	0,16 0,36
CB2R	0,007 0,96	<b>0,39</b> <b>0,01*</b>	0,20 0,21
<b>Linfócitos Tc</b>			
CB1R	- 0,03 0,82	0,30 0,05	0,21 0,20
CB2R	- 0,07 0,64	<b>0,39</b> <b>0,01*</b>	0,23 0,15
<b>Linfócitos B</b>			
CB1R	0,03 0,82	0,26 0,11	0,20 0,22
CB2R	0,08 0,59	0,22 0,18	0,16 0,34
<b>Células NK</b>			
CB1R	0,13 0,37	0,26 0,10	0,25 0,12
CB2R	0,08 0,56	0,22 0,16	0,21 0,19

**Abreviações:** N = número de sujeitos; SCoRS = Schizophrenia Cognition Rating Scale; Th = linfócitos T auxiliares; Tc = linfócitos T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonoide CB1 = receptor endocanabonoide CB1; CB2R = receptor endocanabonoide CB2

**Teste(s) utilizado:** Correlação de Spearman

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

**TABELA 10. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e SCoRS nos controles (valores de rho e p)**

Tipos celulares	SCoRS		
	Total controle (N=20)	Total informante	Total entrevistador
<b>Linfócitos totais</b>			
CB1R	0,28 0,24	--	--
CB2R	0,17 0,46	--	--
<b>Linfócitos T totais</b>			
CB1R	- 0,25 0,28	--	--
CB2R	- 0,27 0,25	--	--
<b>Linfócitos Th</b>			
CB1R	<b>- 0,51 0,02*</b>	--	--
CB2R	- 0,39 0,10	--	--
<b>Linfócitos Tc</b>			
CB1R	0,26 0,29	--	--
CB2R	- 0,08 0,75	--	--
<b>Linfócitos B</b>			
CB1R	0,28 0,23	--	--
CB2R	0,28 0,23	--	--
<b>Células NK</b>			
CB1R	- 0,02 0,93	--	--
CB2R	0,10 0,66	--	--

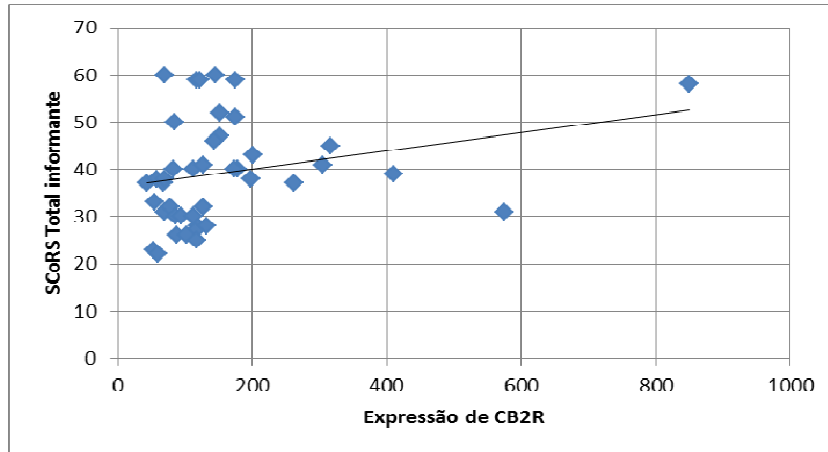
**Abreviações:** N = número de sujeitos; Th = linfócitos T auxiliares; Tc = linfócitos T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonóide CB1 = receptor endocanabonóide CB1; CB2R = receptor endocanabonóide CB2

**Teste(s) utilizado:** Correlação de Spearman

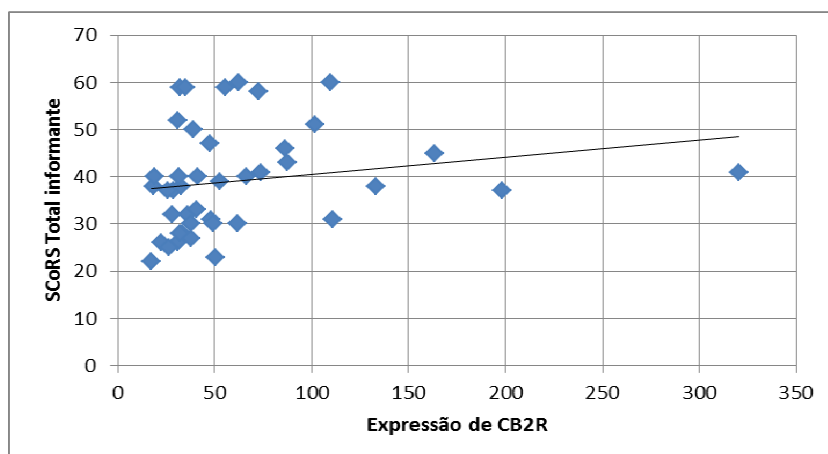
**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01



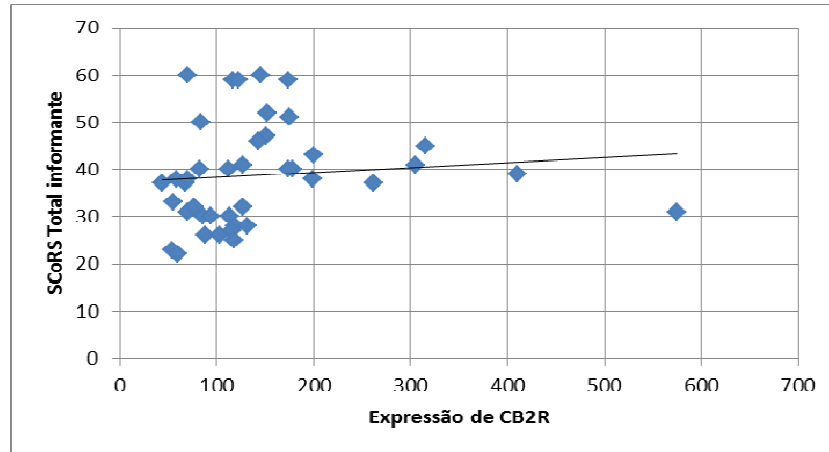
**GRÁFICO 05.** Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS (N=42) ( $\rho = 0,39$ ,  $p = 0,01$ )



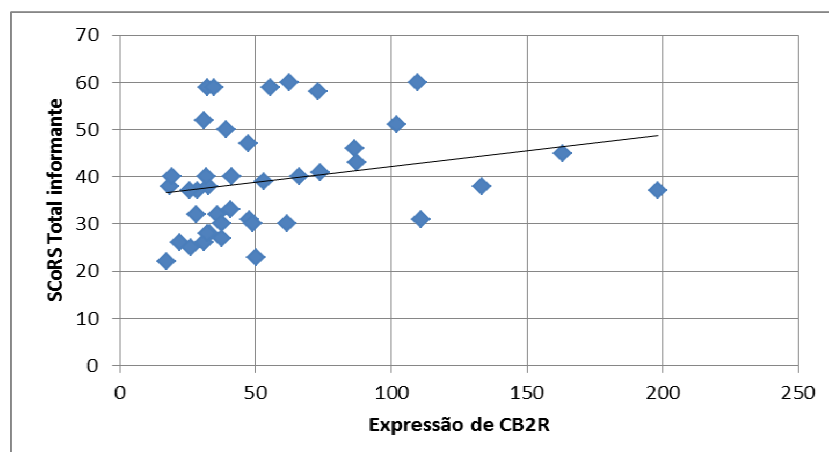
**GRÁFICO 06.** Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS (N=42) ( $\rho = 0,39$ ,  $p = 0,01$ )



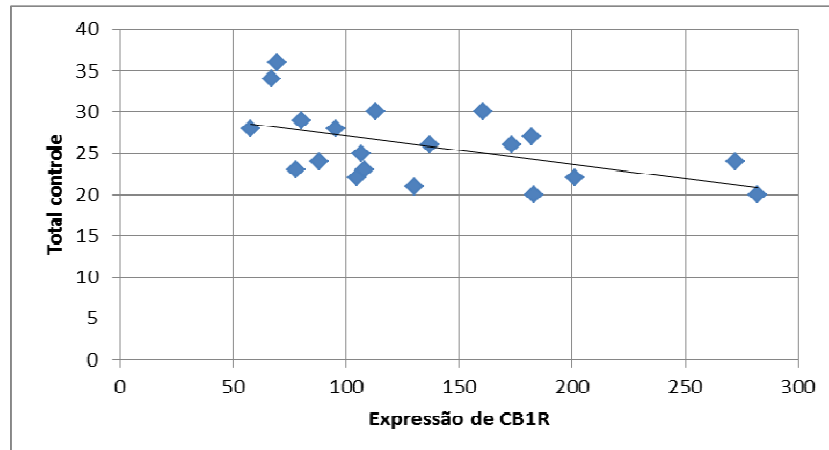
**GRÁFICO 07.** Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS – sem outlier (N=41) (rho= 0,37, p = 0,02)



**GRÁFICO 08.** Correlação entre expressão de CB2R em linfócitos Tc e desempenho cognitivo dos pacientes medido pela SCoRS – sem outlier (N=41) (rho= 0,38, p = 0,01)



**GRÁFICO 09. Correlação entre expressão de CB1R em linfócitos Th e desempenho cognitivo dos controles medido pela SCoRS (N=20) (rho = - 0,51, p = 0,02)**



#### **5.4. Análise de correlação entre expressão de receptores endocanabinóides em linfócitos periféricos e variáveis clínicas**

Não houve correlação significativa entre expressão de CBRs e sintomas positivos, negativos, depressivos, quantidade de medicação antipsicótica ou efeitos colaterais extra-piramidais (AIMS e Simpson-Angus) nos pacientes com esquizofrenia. Estes resultados são descritos na tabela 11.

**TABELA 11. Correlação entre expressão de CBRs em linfócitos periféricos e variáveis clínicas (valores de rho e p)**

Tipos celulares	Variáveis clínicas (N=53)					
	PANSS Positiva	PANSS Negativa	Calgary	AIMS	Simpson- Angus	Dose AP
<b>Linfócitos totais</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,26 0,70	- 0,02 0,88	- 0,05 0,76	0,04 0,79	0,10 0,54	- 0,07 0,66
<b>CB2R</b>	- 0,15 0,29	0,01 0,93	- 0,08 0,63	0,09 0,59	0,06 0,70	- 0,02 0,89
<b>Linfócitos T totais</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,16 0,27	- 0,04 0,79	- 0,004 0,98	- 0,03 0,84	0,23 0,18	- 0,05 0,77
<b>CB2R</b>	0,14 0,33	- 0,05 0,74	- 0,10 0,54	- 0,04 0,82	0,03 0,86	0,007 0,96
<b>Linfócitos Th</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,23 0,11	0,05 0,74	- 0,22 0,19	0,17 0,33	0,20 0,23	0,02 0,92
<b>CB2R</b>	0,008 0,95	0,08 0,55	- 0,16 0,31	0,01 0,94	0,07 0,65	- 0,01 0,92
<b>Linfócitos Tc</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,02 0,89	0,02 0,90	0,09 0,57	0,02 0,89	0,20 0,22	- 0,15 0,31
<b>CB2R</b>	0,13 0,36	0,002 0,99	- 0,01 0,95	0,11 0,51	0,28 0,08	- 0,10 0,50
<b>Linfócitos B</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,16 0,26	- 0,02 0,86	0,21 0,19	- 0,002 0,99	0,20 0,21	- 0,15 0,31
<b>CB2R</b>	- 0,19 0,18	- 0,06 0,67	0,13 0,44	- 0,02 0,89	0,21 0,20	- 0,13 0,39
<b>Células NK</b>						
<b>CB1R</b>	- 0,08 0,59	0,16 0,26	- 0,04 0,80	0,05 0,75	0,13 0,44	0,11 0,45
<b>CB2R</b>	- 0,08 0,57	0,18 0,20	0,005 0,97	0,001 0,98	0,13 0,42	0,05 0,71

**Abreviações:** N = número de sujeitos; Th = T auxiliares; Tc = T citotóxicos; NK = “natural killer”; CB1R = receptor endocanabonóide CB1 = receptor endocanabonóide CB1; CB2R = receptor endocanabonóide CB2; PANSS = Positive and Negative Syndrome Scale; Calgary = Escala Calgary de Depressão para Esquizofrenia AIMS = Abnormal Involuntary Movement Scale; Simpson-Angus = Escala de efeitos extrapiramidais Simpson-Angus; Dose AP = dose de antipsicóticos (em equivalentes de clorpromazina)

**Teste(s) utilizado:** Correlação de Spearman

**Valore(s) significativo(s):** \* p<0,05 e \*\* p<0,01

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que a amostra de pacientes com esquizofrenia apresentou desempenho cognitivo significativamente inferior ao dos controles. Na BACS, os pacientes apresentaram desempenho pior nos seguintes domínios: memória verbal e aprendizado, memória de trabalho, velocidade psicomotora, fluência verbal, atenção e velocidade de processamento de informação. Não houve diferença entre os dois grupos em relação ao desempenho no domínio de raciocínio e resolução de problemas. Na avaliação cognitiva pela SCoRS, os pacientes obtiveram escores, seja pela avaliação dos informantes, do experimentador ou deles próprios, que foram superiores aos dos controles em sua auto-avaliação, o que nesta escala indica um desempenho cognitivo global pior.

Estes resultados são condizentes com a literatura sobre déficits cognitivos em pacientes com esquizofrenia, que mostram que o déficit cognitivo médio associado à doença é de aproximadamente um desvio-padrão abaixo dos sujeitos saudáveis (DICKINSON et al., 2007). Metanálises apontam para um padrão generalizado de déficits nos pacientes, com os maiores tamanhos de efeito encontrados nos domínios de memória episódica, atenção e processamento de informação (HEINRICHS e ZAKZANIS, 1998; FIORAVANTI et al., 2005; DICKINSON et al., 2007; MESHOLAN-GATELY et al., 2009). A falta de diferença entre os dois grupos em relação ao desempenho no teste da Torre de Londres foi provavelmente devido ao baixo desempenho dos controles neste teste. No estudo de validação da BACS (KEEFE et al., 2004), os pacientes obtiveram em média 12 acertos, o que foi semelhante ao valor médio de 9,8 acertos em nossa amostra. Por outro lado, os controles obtiveram uma média de 15 acertos, desempenho muito superior ao da nossa amostra, que foi de 10,8 acertos. Como os controles obtiveram desempenho cognitivo superior aos pacientes em

todos os outros domínios, é muito pouco provável que seu baixo desempenho no teste da Torre de Londres deva-se a déficits de função executiva, mas sim que possa estar relacionado com alguma dificuldade na compreensão do teste.

O subgrupo de pacientes que foi avaliado pelo teste de potencial evocado cognitivo P300 apresentou amplitude média da onda de 6,2 microV em Fz e 4,6 microV em Cz e latências de 344,6 milissegundos em Fz e 340,1 milissegundos em Cz. Franco avaliou com o mesmo teste 25 sujeitos saudáveis e encontrou valores de amplitude maiores (Fz:14,8 e Cz: 16,5) e de latência pouco menores (Fz: 321,24 e Cz: 315,08) (FRANCO, 2001). Os resultados estão condizentes com a extensa literatura que aponta para redução da amplitude e aumento da latência da onda P300 na esquizofrenia (FORD, 1999; JEON e POLICH, 2003).

Pacientes e controles não apresentaram diferença significativa em relação à expressão de CBRs em linfócitos e células NK periféricas, exceto nos valores de expressão de CB2R em linfócitos T totais, que foi levemente maior nos controles. Estes dados contrariam a hipótese de que haveria diferenças mais marcantes de expressão entre os dois grupos. De Marchi e colaboradores avaliaram marcadores do SEC periférico (níveis de AEA no plasma e de RNAm de CB1R, CB2R e FAAH em leucócitos) em 12 pacientes com esquizofrenia (5 antes e depois do tratamento com AP) e 20 controles. Após o tratamento com olanzapina e remissão clínica, encontraram redução dos níveis de AEA (para valores similares ao dos controles) e de expressão de CB2R e FAAH, mas não de CB1R, nos pacientes (DE MARCHI et al., 2003). Como nossa amostra foi composta somente por pacientes estáveis clinicamente, pode-se supor com base nos achados destes autores que o tratamento com AP pode ter reduzido os níveis de expressão de CBR periféricos para valores próximos ao dos controles. Outra hipótese para a falta de diferença na expressão pode ter sido o pequeno tamanho da

amostra, o que pode ter reduzido o poder do estudo de encontrar diferença entre os grupos.

Pacientes e controles apresentaram a mesma ordem de expressão de CB1R em relação aos tipos celulares: linfócitos B > células NK > linfócitos Th > linfócitos Tc. Com relação aos CB2R, os controles apresentaram a mesma ordem de expressão, enquanto os pacientes apresentaram uma pequena diferença (células NK > linfócitos B). A literatura descreve resultados semelhantes. Galiègue e colaboradores mediram os níveis de RNAm de receptores CB1 e CB2 em leucócitos periféricos de pessoas saudáveis e encontraram a seguinte ordem de expressão: linfócitos B > células NK > linfócitos Tc > linfócitos Th. Estes autores encontraram valores de expressão de CB2R 10 a 100 vezes maiores do que de CB1R nas células periféricas (GALIÈGUE et al., 1995), o que não foi confirmado por nossos dados.

Os resultados das análises de correlação demonstram que nos pacientes com esquizofrenia o aumento da expressão de CBRs em linfócitos associou-se com pior desempenho cognitivo medido por dois instrumentos diferentes (P300 e SCoRS). O aumento da expressão de CB2R (em linfócitos Tc e Th) associou-se a pior atenção e velocidade de processamento de informação medido pelo P300 e pior desempenho cognitivo global medido pela SCoRS.

Nos sujeitos saudáveis evidenciou-se a inversão do padrão de correlação entre expressão de receptores endocanabinóides e desempenho cognitivo observado nos pacientes. Maior expressão de CB1R (em linfócitos Th) se correlacionou com melhor desempenho cognitivo global na SCoRS. A tabela 11 sumariza os resultados das análises de correlação.

É possível que a ausência de associação entre expressão de CBRs e desempenho cognitivo medido pela BACS possa estar relacionado ao desempenho dos dois grupos

nas tarefas da bateria. A maior parte dos pacientes apresentou desempenho muito baixo (“efeito chão”), já os controles apresentaram, na maior parte, um bom desempenho (“efeito teto”), o que pode ter levado a redução da variabilidade dos resultados e contribuído para a ausência de correlação.

**TABELA 12. Correlações entre níveis de expressão de CBRs em linfócitos periféricos e desempenho cognitivo de pacientes com esquizofrenia e controles**

<b>Sujeitos</b>	<b>CBR em linfócitos</b>	<b>Desempenho cognitivo</b>
<b>Pacientes</b>	↑CB2R	Pior atenção e velocidade de processamento (P300)
	↑CB2R	Pior desempenho cognitivo global (SCoRS)
<b>Controles</b>	↑CB1R	Melhor desempenho cognitivo global (SCoRS)

Os resultados das análises de correlação serão interpretados de duas formas. Na primeira abordagem, discutem-se os resultados da associação entre expressão de CBRs e desempenho cognitivo traçando um paralelo com os estudos que avaliaram os níveis de expressão de CBRs no SNC (com enfoque no receptor CB2). Posteriormente, uma abordagem alternativa dos resultados será formulada através da confrontação com estudos que apontam para a participação do SEC nas alterações imunes da esquizofrenia.

### **6.1 Associação de CB2R com desempenho cognitivo refletiria as alterações de CB2R centrais na esquizofrenia**

No presente estudo, o aumento de expressão de CB2R nos pacientes com esquizofrenia associou-se ao pior desempenho atencional e cognitivo global.



Diversos trabalhos apontam para alterações de receptores endocanabinóides no SNC dos pacientes com esquizofrenia. O receptor CB2 foi considerado por muito tempo o receptor endocanabinóide periférico, pois foi inicialmente encontrado em grande quantidade no sistema imune e os primeiros estudos que avaliaram sua presença no SNC encontraram resultados negativos. Entretanto, diversos trabalhos atuais contestam estes primeiros achados (ATWOOD e MACKIE, 2010). Apesar de ainda preliminares e devendo ser interpretadas com cautela, diversas evidências anatômicas e funcionais apontam para a expressão de CB2R no SNC e sugerem que este receptor poderia atuar isoladamente ou em conjunto com o CB1R em diferentes populações de neurônios na regulação de importantes processos neurais (ONAIWI et al., 2006; ORTEGA-ALVARO et al., 2011). A expressão de CB2R foi identificada em diversas regiões cerebrais de mamíferos, inclusive em áreas envolvidas com os processos cognitivos, tais como hipocampo e córtex cingulado, em quantidades muito inferiores das de CB1R (VAN SICKLE et al., 2005; ONAIWI et al., 2006; RACZ et al., 2008; GARCIA-GUTIERREZ et al., 2010; ORTEGA-ALVARO et al., 2011).

Além de estarem presentes em áreas cerebrais relacionadas à esquizofrenia, evidências de estudos com modelos animais e em seres humanos sugerem a participação do CB2R na fisiopatologia da doença. O já citado estudo de De Marchi e colaboradores encontrou redução da expressão de CB2R em células mononucleares periféricas em um subgrupo de pacientes com esquizofrenia após remissão clínica (DE MARCHI et al., 2003). Ishiguro e colaboradores identificaram a associação de dois polimorfismos funcionais do gene que codifica o CB2R com risco de esquizofrenia em uma população japonesa. No polimorfismo rs12744386, a homozigose do alelo de risco para a doença (alelo C) foi associado com menores níveis de expressão de CB2R tanto em linfoblastos, quanto em amostras *post-mortem* de tecido cerebral do CPFdl (área 9 de

Brodman) de pacientes com esquizofrenia. No polimorfismo rs2501432 (R63Q), o alelo de risco (R63) codificou um receptor com função reduzida. Ou seja, os dois polimorfismos do gene de CB2R que conferem maior risco para esquizofrenia se associaram a menor funcionalidade do receptor. Os autores complementaram estes achados demonstrando em um modelo animal que um agonista inverso de CB2R é capaz de diminuir ainda mais a redução do PPI (uma medida do mecanismo de filtragem sensorio-motora) induzida por drogas dopaminérgicas, mas não exerce o mesmo efeito se administrado isoladamente, o que sugere que as alterações de CB2R confeririam susceptibilidade à doença quando associadas a outros fatores de risco (ISHIGURO et al., 2010). Em modelos animais com deleção do gene que codifica o CB2R, Ortega-Álvaro e colaboradores evidenciaram alterações cognitivas semelhantes às encontradas na esquizofrenia, tais como disfunção de memória de curto e longo prazo e redução do PPI (ORTEGA-ALVARO et al., 2011). Portanto, alterações do CB2R central muito provavelmente participam da fisiopatologia de, pelo menos um subgrupo de pacientes com esquizofrenia e estudos em modelos animais sugerem que alterações funcionais do receptor poderiam estar associadas a alterações cognitivas.

As evidências de que alterações funcionais do CB2R poderiam estar associadas a alterações de processamento cognitivo pré-atencional (filtragem sensorial) e a identificação do CB2R em áreas do SNC envolvidas com os processos cognitivos, onde o CB1R já foi identificado em grande quantidade, permitem supor que os dois receptores atuam em conjunto na modulação de funções sinápticas importantes para o funcionamento cognitivo, tais como na plasticidade sináptica ou na otimização do fluxo de informações em redes neurais (DE FONSECA et al., 2005; ONAIVI et al., 2006; KANO ET AL., 2009; ORTEGA-ALVARO et al., 2011). Como os estudos de caracterização da presença de CB2R no SNC ainda estão em fase inicial, serão

discutidos os trabalhos que apontam para alterações da expressão de CB1R em áreas envolvidas na esquizofrenia, em especial as envolvidas com os processos cognitivos.

Os estudos que avaliaram os níveis de expressão de CB1R centrais em pacientes com esquizofrenia apresentaram resultados contraditórios. Três estudos, que utilizaram radioligantes para a identificação do receptor em amostras de tecido cerebral, encontraram aumento da expressão do receptor no CPFdl e CCA (DEAN et al., 2001; ZAVITSANOU et al., 2004; CECCARINI et al., 2010; DALTON et al., 2011) e um no CCP (NEWELL et al., 2006) nos pacientes em relação a controles saudáveis. Outros três estudos, que utilizaram imunohistoquímica para identificar o receptor, encontraram redução dos níveis de CB1R nos pacientes nas mesmas regiões (EGGAN et al., 2008; URIGÜEN et al., 2009; EGGAN et al., 2010), enquanto dois estudos não encontraram diferença de expressão em relação aos controles (KOETHE et al., 2007; WONG et al., 2010). A tabela 12 sumariza estes resultados.

Estas discrepâncias podem ser decorrentes de diferenças metodológicas. Dalton e colaboradores afirmam que os estudos que usam radioligantes têm maiores chances de refletir quantitativamente a expressão de receptores do que os estudos que empregam imunohistoquímica em amostras de tecido cerebral. Eles argumentam que os anticorpos podem não ser capazes de se ligar aos receptores em todos os tipos ou compartimentos celulares, o que os tornariam menos efetivos que os radioligantes na detecção da expressão de CBRs. Além disso, diversos estudos *post-mortem* e um *in vivo*, que utilizaram radioligantes diferentes, são consistentes em apontar para o aumento da expressão de CBRs na esquizofrenia (DALTON et al., 2011). Estes argumentos sugerem que há um aumento na expressão de CB1R em áreas cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas na esquizofrenia e que esta alteração poderia contribuir para a fisiopatologia dos déficits cognitivos da doença.

**TABELA 13. Trabalhos que avaliaram a expressão de CB1R no SNC (áreas envolvidas com processos cognitivos) de pacientes com esquizofrenia e controles**

<b>Autor</b>	<b>Método</b>	<b>Área</b>	<b>Resultado</b>
Dean et al., 2001	Radioligante	CPFdl (área 9) Hipocampo	Eqz > Ct Eqz = Ct
Dalton et al., 2011	Radioligante	CPFdl (área 46)	Eqz paranóide > Ct.
Zavitsanou et al., 2004	Radioligante	CCA	Eqz > Ct
Newell et al., 2006	Radioligante	CCP	Eqz > Ct
Koethe et al., 2007	Imunohistoquímica	CCA	Eqz = Ct
Eggan et al., 2008	Imunohistoquímica	CPFdl (área 9)	Eqz < Ct
Urigüen et al., 2009	Imunohistoquímica	CPFdl (área 9)	Eqz com AP < Ct
Eggan et al., 2010	Imunohistoquímica	CPFdl (área 46)	Eqz < Ct
Wong et al., 2010	PET scan	Córtex frotal Córtex cingulado Hipocampo	Eqz = Ct
Ceccarini et al., 2010	PET scan	CCA	Eqz com AP > Ct

**Abreviações:** CPFdl = córtex pré-frontal dorso-lateral; CCA = córtex cingulado anterior; CCP = córtex cingulado posterior; Eqz = pacientes com esquizofrenia; Ct = controles; AP = antipsicóticos.

Como descrito anteriormente, o CCA e o CPFdl são regiões cerebrais importantes para o funcionamento adequado de um dos circuitos atencionais, o sistema de seleção, responsável pela atenção executiva. Este tipo de processo atencional é responsável pelo monitoramento e resolução de conflitos entre pensamentos,

sentimentos e respostas e é acionado em situações que exijam esforço mental persistente, planejamento, tomada de decisão, detecção de erros, respostas novas ou não completamente aprendidas ou situações difíceis ou perigosas (POSNER e FAN, 2004; RAZ, 2004). A amplitude da onda do potencial evocado cognitivo P300 registra o funcionamento destes circuitos atencionais fronto-límbicos (subcomponente P3a) e sua redução nos pacientes com esquizofrenia provavelmente indica a disfunção destas redes neurais (POLICH, 2007).

Pacientes com esquizofrenia provavelmente têm aumento de expressão de CB1R em áreas do SNC críticas ao funcionamento cognitivo. Evidências atuais indicam que alterações do SNC poderiam ser acessadas de forma não invasiva. Diversos autores sustentam que os linfócitos periféricos refletiriam as alterações neurobiológicas encontradas no SNC nas doenças neurológicas e psiquiátricas e poderiam ser usados como sondas neurais na investigação destas patologias. Gladkevich e colaboradores defendem esta posição baseados em 4 argumentos principais. Primeiro, o SNC e o SI se inter-relacionam de forma estreita através de uma complexa rede que envolve mecanismos neurais, endócrinos e imunes. Segundo, o SI, mais especificamente os linfócitos, apresenta alterações de seu funcionamento nas doenças do SNC. Na esquizofrenia, diversas alterações imunes foram descritas, tais como uma mudança da reatividade imune de um padrão Th1 para um padrão Th2, caracterizado pelo aumento de IL-6, em um subgrupo de pacientes com a doença (STROUS e SHOENFELD, 2006). Terceiro, os linfócitos expressam receptores, neurotrofinas e elementos de sistemas de neurotransmissão idênticos aos encontrados nos neurônios, tais como BDNF, receptores dopaminérgicos, muscarínicos e os já citados receptores canabinóides. Ilani e colaboradores demonstraram um aumento dos níveis de RNAm do receptor D3 da dopamina em linfócitos periféricos de pacientes com esquizofrenia, o que foi condizente

com resultados prévios que evidenciaram aumento deste receptor no SNC (ILANI et al., 2001). Quarto, alterações na expressão gênica de elementos envolvidos nas doenças psiquiátricas e neurológicas foram encontradas em linfócitos e poderiam ser o elo de ligação entre o componente imune e o neural (GLADKEVICH et al., 2004). Com relação ao SEC, Centonze e colaboradores sugerem que elementos do SEC periférico espelham as disfunções da sinalização endocanabinóide central na esquizofrenia e em outras doenças psiquiátricas e neurológicas (CENTONZE et al., 2008).

Com isso, pode-se supor que as alterações de expressão de receptores endocanabinóides centrais poderiam ser refletidas por alterações na expressão destes receptores em linfócitos periféricos. Este fato, associado às evidências de que o CB2R (1) provavelmente está presente em diversas áreas do SNC importantes para o funcionamento cognitivo, tais como hipocampo e córtex cingulado; (2) pode atuar em conjunto com o CB1R na modulação da função e plasticidade sináptica; (3) pode apresentar alterações de funcionalidade em pacientes com esquizofrenia; e (4) pode participar da fisiopatologia das alterações dos processos cognitivos pré-atencionais (filtragem sensorio-motora) que estão presentes na doença, sugerem que a associação entre expressão de CB2R periférica e desempenho cognitivo dos pacientes encontrada no presente estudo possa refletir alterações de expressão de CB2R centrais.

Assim, o aumento de CB2R em linfócitos poderia refletir o aumento de expressão de CB2R em áreas envolvidas nos processos cognitivos, tais como CPFdl e CCA. Segundo o trabalho de Ishiguro e colaboradores, os pacientes com esquizofrenia expressariam receptores CB2 disfuncionais (ISHIGURO et al., 2010), que poderiam contribuir para alterações nas redes neurais cognitivas e levar a déficits cognitivos. O aumento da expressão do receptor poderia representar um mecanismo regulatório, que tentaria compensar a diminuição da função do receptor. Portanto, a correlação entre

expressão de CB2R periférico e prejuízo cognitivo poderia ser um indicativo das alterações de funcionalidade de CB2Rs centrais.

Mesmo não havendo estudos de expressão de CB2R em humanos, a associação entre maior expressão de CB2R e pior desempenho cognitivo encontrada no presente estudo pode ser interpretada como condizente com a literatura que aponta para o aumento da expressão de CB1R em áreas cerebrais envolvidas com as funções cognitivas dos pacientes com esquizofrenia. Mais especificamente, corroboram os resultados da análise de correlação realizada no trabalho de Ceccarini e colaboradores, que encontraram maiores níveis de expressão de CB1R central associada a pior a atenção e velocidade psicomotora (CECCARINI et al., 2010).

Interessante salientar que a correlação mais forte encontrada foi entre expressão de CB2R e pior desempenho atencional medido pelo potencial evocado cognitivo P300 ( $\rho = -0,71$  e  $p=0,006$ ), que mede o funcionamento de circuitos atencionais que envolvem o CPF e o CCA, justamente as áreas onde foram encontradas alterações de expressão de CBRs na esquizofrenia.

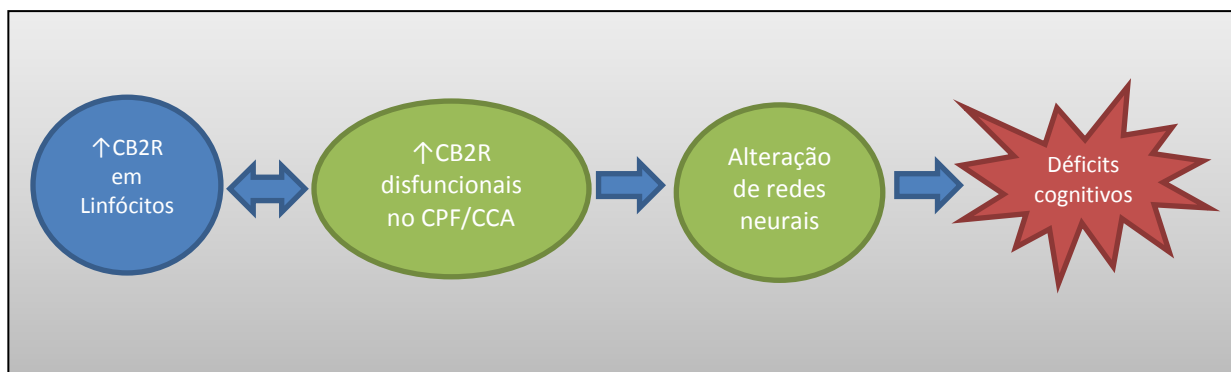
Nos controles, houve correlação somente entre expressão de CB1R e desempenho cognitivo, o que poderia apontar para a participação deste receptor na cognição normal e para a especificidade do envolvimento das alterações de CB2R na esquizofrenia.

Não houve correlação significativa entre expressão de CBRs e possíveis confundidores, tais como sintomas positivos, negativos, depressivos, quantidade de medicação antipsicótica ou efeitos colaterais extra-piramidais, o que fortalece ainda mais a associação entre expressão de CBR e desempenho cognitivo.

Portanto, os resultados contribuem para a hipótese de que a expressão de CBR nos linfócitos periférico refletiria a expressão do receptor no SNC e sugerem que as

alterações do SEC no CPF e CCA participam da fisiopatologia dos déficits cognitivos nos pacientes com esquizofrenia. A figura 4 representa de forma esquemática esta possível interpretação da associação entre expressão de CB2R periférico e desempenho cognitivo nos pacientes.

**FIGURA 04. Aumento de CB2R periférico refletindo alteração de expressão de CB2R central**



## **6.2 Associação de CB2R com desempenho cognitivo refletiria as alterações da micróglia ativada na esquizofrenia**

Considerando o papel do SEC na regulação da função imune, uma interpretação alternativa dos resultados pode ser feita. O SEC tem função fisiológica importante na modulação do sistema imunológico, tendo papel na limitação da resposta imune local e no controle da hiperativação imunológica. Os ECBs exercem estes efeitos moduladores principalmente via ativação de CB2R nas células imunes. Em monócitos/macrófagos, por exemplo, os ECBs têm efeito inibitório sobre a liberação de citocinas inflamatórias (KLEGERIS et al., 2003; CROXFORD e YAMAMURA, 2005; MASSI et al., 2006; WOLF e ULLRICH, 2008). Mais especificamente, diversos estudos apontam para a participação do CB2R nas funções da micróglia, as células inflamatórias derivados de



macrófagos que são residentes no SNC. A ativação inflamatória da micróglia está associada ao aumento da expressão de CB2R por estas células (CARLISLE et al., 2002; CABRAL et al., 2008). Por outro lado, há evidências de que a ativação deste receptor tem efeito inibitório sobre a micróglia (BENITO et al., 2008).

Sabe-se que a esquizofrenia está associada à neuroinflamação, que é a ativação das células microgлияis, e que este processo pode contribuir para a fisiopatologia da doença, em especial de seus déficits cognitivos. Monji e colaboradores propõem que eventos estressores pré-natais podem levar a ativação inflamatória anormal da micróglia. A neuroinflamação resultante pode prejudicar a neurogênese e o neurodesenvolvimento, alterar a função dos oligodendrócitos e o processo de mielinização, além de favorecer a apoptose e a neurodegeneração. Estes três processos estão envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia. (MONJI et al., 2009). Evidências neuropatológicas e de neuroimagem funcional apontam para a ativação microglial em áreas importantes para os processos cognitivos, tais como o CPF, na esquizofrenia (BANATI e HICHIE, 2009; URANOVA et al., 2010). Recentemente, surgiram evidências de que a micróglia contribui para os mecanismos de modulação sináptica, memória e aprendizagem. A micróglia ativada, agindo através de citocinas e outros sistemas de sinalização, e a micróglia não ativada, através do contato celular direto, têm a capacidade de interferir com o turnover sináptico e assim, com o tempo, alterar a estrutura e função sináptica (HANISCH e KETTENMANN, 2007). Além disso, existem evidências de que a micróglia participa de funções neuronais importantes para a função cognitiva normal: (1) plasticidade sináptica (LTP e remodelamento e eliminação das espinhas dendríticas); (2) regulação da concentração de neurotransmissores na fenda sináptica; (3) modulação na neurogênese durante a vida adulta; e (4) libera citocinas (IL-1B) que influenciam os processos de aprendizado e memória dependentes do

hipocampo. Portanto, a ativação microglial presente nos pacientes com esquizofrenia, principalmente no CPF e em outras áreas importantes para os processos cognitivos, pode alterar o funcionamento neural e contribuir para a fisiopatologia dos déficits cognitivos da doença (BLANK e PRINZ 2013).

Em um interessante estudo de neuroimagem, Banati e Hickie (2009) observaram correlação entre MMN, uma medida de potencial evocado cognitivo que avalia o processamento neural pré-atencional, e evidências de ativação microglial *in vivo* em pacientes com esquizofrenia. Eles encontraram evidências de ativação microglial em diversas regiões cerebrais dos pacientes e maiores graus de neuroinflamação associados ao maior o prejuízo no MMN, o que pode sugerir a participação da ativação microglial na fisiopatologia dos déficits cognitivos da esquizofrenia (BANATI e HICKIE, 2009).

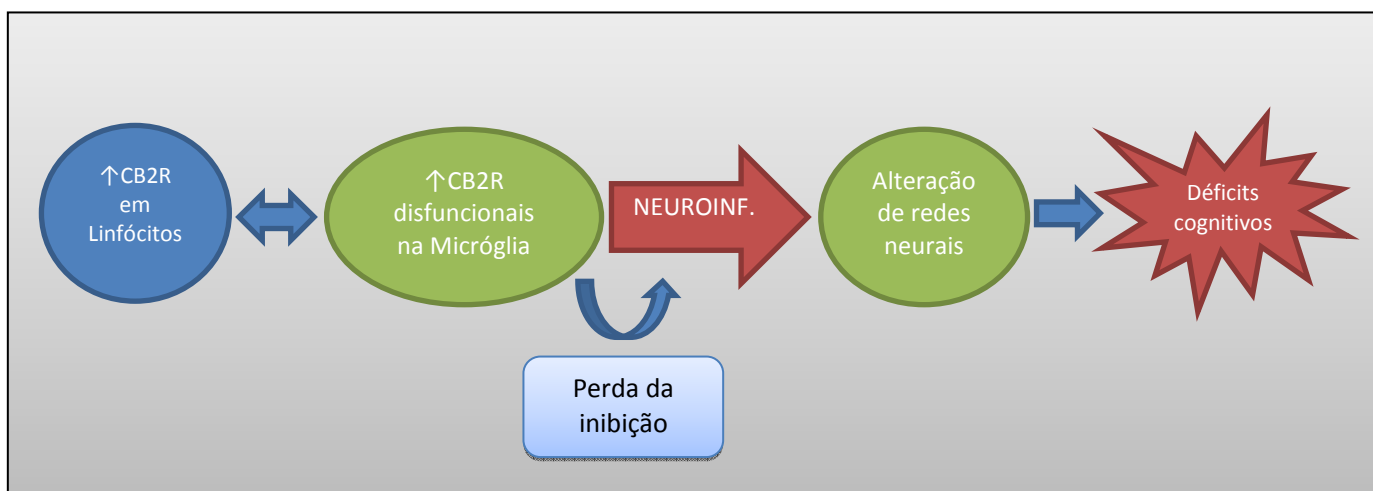
Portanto, os resultados da correlação do presente estudo, que indicam que o aumento de expressão de CB2R em linfócitos se associa com pior desempenho cognitivo nos pacientes com esquizofrenia, poderia não necessariamente refletir os níveis de expressão de CB2R neuronal, mas sim um aumento do receptor na micróglia ativada, que por sua vez afetaria a função das redes neurais responsáveis por processos cognitivos, e assim contribuiria para o pior desempenho cognitivo observado nestes pacientes. A disfunção das redes neurais cognitivas pela neuroinflamação pode ter sido identificada pelas alterações do P300 encontradas nos pacientes. A ausência de correlação entre expressão de CB1R (presente em muito maior quantidade no SNC do que o CB2R) com P300 nos pacientes e a ausência de correlação entre expressão de CB2R e cognição nos controles favorece a hipótese de que a expressão periférica estaria refletindo a expressão na micróglia ativada e não nos neurônios.

Como o SEC, via ativação de CB2R nas células imunes, parece exercer função modulatória negativa sobre a atividade inflamatória, pode-se supor que o aumento da

expressão de CB2R na micróglia ativada poderia representar um mecanismo protetor, que teria a função de limitar a neuroinflamação. Na esquizofrenia, que está associada à expressão de receptores CB2 disfuncionais (ISHIGURO et al., 2010), pode haver a perda deste mecanismo protetor, o que contribuiria para o descontrole da neuroinflamação e poderia levar aos déficits cognitivos.

A figura 5 representa de forma esquemática a segunda interpretação possível da associação entre expressão de CB2R periférico e desempenho cognitivo nos pacientes.

**FIGURA 05. Aumento de CB2R periférico refletindo ativação microglial**



Algumas limitações do presente trabalho devem ser ressaltadas. Primeiro, o pequeno número de sujeitos da amostra pode ter reduzido a capacidade de encontrar diferenças significativas entre os grupos. Segundo, a seleção dos pacientes não levou em conta características clínicas ou biológicas que poderiam reduzir a heterogeneidade dos pacientes, o que também pode ter contribuído para reduzir o poder do estudo de encontrar associações entre expressão de CBR e cognição. Terceiro, nossa amostra de pacientes foi composta por sujeitos estabilizados, portanto todos estavam em uso de AP

e há evidências de que estas medicações poderiam influenciar nos níveis de expressão de CBR em células imunes periféricas (DE MARCHI et al., 2003). O fato de não ter havido correlação entre a dose de antipsicótico e a expressão de CBR em linfócitos sugere que não houve tal influência em nossa amostra. Por fim, o sentido da relação causal entre expressão de CBR e desempenho cognitivo encontrada deve ser interpretada com cautela devido às limitações dos estudos transversais e de correlação, que podem no máximo sugerir causalidade, mas nunca comprová-la.

Apesar destas limitações, nosso estudo traz algumas contribuições para o melhor entendimento dos determinantes biológicos dos déficits cognitivos na esquizofrenia. A aferição do desempenho cognitivo dos sujeitos de forma ampla, utilizando instrumentos próximos dos substratos neurais (potencial evocado P300), intermediários (BACS) e mais próximos do desempenho dos pacientes no mundo real (SCoRS) é um ponto positivo deste estudo. A avaliação da expressão de CBR em linfócitos periféricos por imunofenotipagem e sua comparação com controles saudáveis ainda não havia sido feita até o momento. Além disso, poucos trabalhos haviam correlacionado os níveis de expressão de CBR com variáveis cognitivas.

Dessa forma, mais estudos são necessários para esclarecer completamente os substratos neurobiológicos dos déficits cognitivos na esquizofrenia, em especial a participação das alterações de expressão de CBR central e periférica na sua fisiopatologia. Talvez um melhor entendimento dos determinantes genéticos dos componentes do SEC possa representar uma estratégia promissora.

## **7. CONCLUSÃO**

A investigação dos determinantes neurobiológicos da esquizofrenia e, em especial de seus déficits cognitivos, tem avançado muito, mas apesar do grande volume de dados gerados até o momento, ainda não somos capazes de formular uma compreensão completa dos determinantes etiopatogênicos e dos mecanismos fisiopatológicos desta dimensão sintomática.

Nossos resultados sugerem que as alterações atencionais e o desempenho cognitivo geral dos pacientes com a doença estão associados com os níveis de expressão de receptores endocanabinóides tipo 2 em linfócitos periféricos e que estas células podem refletir as alterações de receptores endocanabinóides centrais em áreas cerebrais envolvidos com os processos cognitivos ou em células microgliais, que quando ativadas podem contribuir para a piora da função cognitiva. Estes dados fornecem evidências adicionais da participação de alterações do SEC na fisiopatologia dos déficits cognitivos na esquizofrenia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU N, MATTOS P. Memória. In MALLOY-DINIZ LF, FUENTES D, MATTOS P, ABREU N, organizadores. **Avaliação Neuropsicológica**. Artmed Editora S.A. Porto Alegre. 2010.

ADER R. On the development of psychoneuroimmunology. **Eur J Pharmacol**. 2000 Sep 29;405(1-3):167-76.

ADDINGTON D, ADDINGTON J, SCHISSEL B. A depression rating scale for schizophrenics. **Schizophr Res**. 1990 Jul-Aug;3(4):247-51.

ALVES GJ, PALERMO-NETO J. Neuroimunomodulação: sobre o diálogo entre os sistemas nervoso e imune. **Rev Bras Psiquiatr**. 2007; 29(4):363-9

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV TR). Washington, DC, American Psychiatric Association, 2000.

AMORIM P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Rev Bras Psiquiatria**. 2000; 22:106-15.

ANDREASEN NC. Thought, language, and communication disorders. I. Clinical assessment, definition of terms, and evaluation of their reliability. **Arch Gen Psychiatry**. 1979 Nov;36(12):1315-21.

ATWOOD BK, MACKIE K. CB2: a cannabinoid receptor with an identity crisis. **Br J Pharmacol**. 2010 Jun;160(3):467-79.

BANATI R, HICKIE IB. Therapeutic signposts: using biomarkers to guide better treatment of schizophrenia and other psychotic disorders. **Med J Aust**. 2009 Feb 16;190(4 Suppl):S26-32. Review.

BENITO C, TOLÓN RM, PAZOS MR, NÚÑEZ E, CASTILLO AI, ROMERO J. Cannabinoid CB2 receptors in human brain inflammation. **Br J Pharmacol**. 2008 Jan;153(2):277-85. Epub 2007 Oct 15. Review.

BLANK T, PRINZ M. Microglia as modulators of cognition and neuropsychiatric disorders. **Glia**. 2013 Jan;61(1):62-70. Epub 2012 Jun 27.

BOWIE CR, HARVEY PD. Cognition in schizophrenia: impairments, determinants, and functional importance. **Psychiatr Clin North Am**. 2005 Sep;28(3):613-33, 626.

BRAFF DL, LIGHT GA. Preattentive and attentional cognitive deficits as targets for treating schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl)**. 2004;174(1):75-85.

BRAYNER ICS. Aplicação do paradigma auditivo “oddball” no estudo do P300: normatização para faixa etária de 7-14 anos e avaliação de crianças com dificuldade de

aprendizagem com e sem transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. **Dissertação de Mestrado**. Campinas, SP. 2003.

BRÉBION G, GORMAN JM, MALASPINA D, SHARIF Z, AMADOR X. Clinical and cognitive factors associated with verbal memory task performance in patients with schizophrenia. **Am J Psychiatry**. 2001 May;158(5):758-64.

BREIVOGEL CS, SIM-SELLEY LJ. Basic neuroanatomy and neuropharmacology of cannabinoids. **Int Rev Psychiatry**. 2009 Apr;21(2):113-21.

BRESSAN RA, CHAVES AC, SHIRAKAWA I, DE MARI J. Validity study of the Brazilian version of the Calgary Depression Scale for Schizophrenia. **Schizophr Res**. 1998; 32(1):41-9.

CABRAL GA, RABORN ES, GRIFFIN L, DENNIS J, MARCIANO-CABRAL F. CB2 receptors in the brain: role in central immune function. **Br J Pharmacol**. 2008 Jan;153(2):240-51. Epub 2007 Nov 26. Review.

CARLISLE SJ, MARCIANO-CABRAL F, STAAB A, LUDWICK C, CABRAL GA. Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. **Int Immunopharmacol**. 2002 Jan;2(1):69-82.

CECCARINI J, DE HERT M, VAN WINKEL R, KOETHE D, BORMANS G, LEWEKE M, PEUSKENS J, VAN LAERE K. *In vivo* PET imaging of cerebral type 1 cannabinoid receptor availability in patients with schizophrenia. **Schizophrenia Research**. 2010 Apr;117(2):170.

CENTONZE D, BATTISTINI L, MACCARRONE M. The endocannabinoid system in peripheral lymphocytes as a mirror of neuroinflammatory diseases. **Curr Pharm Des**. 2008; 14(23):2370-42.

CHAVARRÍA-SILES I, CONTRERAS-ROJAS J, HARE E, WALSS-BASS C, QUEZADA P, DASSORI A, CONTRERAS S, MEDINA R, RAMÍREZ M, SALAZAR R, RAVENTOS H, ESCAMILLA MA. Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**. 2008; 147(3):279-84.

CHAVES AC, SHIRAKAWA I. Escala das Síndromes Negativa e Positiva : PANSS e seu uso no Brasil. **Revista de Psiquiatria Clínica**. 1998; 25(6).

COHEN M, SOLOWIJ N, CARR V. Cannabis, cannabinoids and schizophrenia: integration of the evidence. **Aust N Z J Psychiatry**. 2008 May;42(5):357-68.

CROXFORD JL, YAMAMURA T. Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases? **J Neuroimmunol**. 2005 Sep;166(1-2):3-18.

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;36(8):1620-30. Epub 2011 Apr 6.

DAVIDSON M, GALDERISI S, WEISER M, WERBELOFF N, FLEISCHHACKER WW, KEEFE RS, BOTER H, KEET IP, PRELIPCEANU D, RYBAKOWSKI JK, LIBIGER J, HUMMER M, DOLLFUS S, LÓPEZ-IBOR JJ, HRANOV LG, GAEBEL W, PEUSKENS J, LINDEFORS N, RIECHER-RÖSSLER A, KAHN RS. Cognitive effects of antipsychotic drugs in first-episode schizophrenia and schizophreniform disorder: a randomized, open-label clinical trial (EUFEST). **Am J Psychiatry**. 2009 Jun;166(6):675-82. Epub 2009 Apr 15.

DE FONSECA FR, DEL ARCO I, BERMUDEZ-SILVA FJ, BILBAO A, CIPPITELLI A, NAVARRO M. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. **Alcohol Alcohol**. 2005 Jan-Feb;40(1):2-14. Epub 2004 Nov 18.

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.

DE PETROCELLIS L, DI MARZO V. An introduction to the endocannabinoid system: from the early to the latest concepts. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**. 2009 Feb;23(1):1-15.

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;103(1):9-15.

DELVES PJ, ROITT IM. The immune system. First of two parts. **N Engl J Med**. 2000 Jul 6;343(1):37-49.

DICKINSON D, RAMSEY ME, GOLD JM. Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**. 2007; May;64(5):532-42.

DISSANAYAKE DW, ZACHARIOU M, MARSDEN CA, MASON R. Auditory gating in rat hippocampus and medial prefrontal cortex: effect of the cannabinoid agonist WIN55,212-2. **Neuropharmacology**. 2008 Dec;55(8):1397-404. Epub 2008 Sep 17.

D'SOUZA DC, PERRY E, MACDOUGALL L. The psychomimetic effects of intravenous delta9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. **Neuropsychopharmacology**. 2004; 29:1558-1572.

EGGAN SM, HASHIMOTO T, LEWIS DA. Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**. 2008 Jul;65(7):772-84.

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;35(10):2060-71. Epub 2010 Jun 16.



FERNANDEZ-ESPEJO E, VIVEROS MP, NÚÑEZ L, ELLENBROEK BA, DE FONSECA FR. Role of cannabis and endocannabinoids in the genesis of schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl)**. 2009 Nov;206(4):531-49. Epub 2009 Jul 24.

FERREIRA BCJ, BARBOSA ML, BARBOSA IG, BORGES A, HARA C, ROCHA FL. Versão brasileira da Escala de Avaliação da Cognição em Esquizofrenia (SCoRS-Br) - Validação em contextos clínicos sem informantes. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria** (UFRJ. Impresso), v. 59, p. 271-278, 2010.

FERRETJANS R, MOREIRA FA, TEIXEIRA AL, SALGADO JV. The endocannabinoid system and its role in schizophrenia: a systematic review of the literature. **RBP Psychiatry**. 2012; 34(Suppl2):S163-S193.

FIORAVANTI M, CARLONE O, VITALE B, CINTI ME, CLARE L. A meta-analysis of cognitive deficits in adults with a diagnosis of schizophrenia. **Neuropsychol Rev**. 2005; Jun;15(2):73-95.

FORD JM. Schizophrenia: the broken P300 and beyond. **Psychophysiology**. 1999 Nov;36(6):667-82.

FRANCO GM. O potencial evocado cognitivo em adultos normais. **Arq Neuropsiquiatr** 2001;59(2-A):198-200.

FRIDE E. Endocannabinoids in the central nervous system: from neuronal networks to behavior. **Curr Drug Targets CNS Neurol Disord**. 2005 Dec;4(6):633-42.

GALIÈGUE S, MARY S, MARCHAND J, DUSSOSSOY D, CARRIÈRE D, CARAYON P, BOUABOULA M, SHIRE D, LE FUR G, CASELLAS P. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. **Eur J Biochem**. 1995; Aug 15;232(1):54-61.

GARCÍA-GUTIÉRREZ MS, PÉREZ-ORTIZ JM, GUTIÉRREZ-ADÁN A, MANZANARES J. Depression-resistant endophenotype in mice overexpressing cannabinoid CB(2) receptors. **Br J Pharmacol**. 2010 Aug;160(7):1773-84.

GARDNER DM, MURPHY AL, O'DONNELL H, CENTORRINO F, BALDESSARINI RJ. International consensus study of antipsychotic dosing. **Am J Psychiatry**. 2010 Jun;167(6):686-93. Epub 2010 Apr 1.

GIL D, FERNÁNDEZ-MODAMIO M, BENGOCHEA R, ARRIETA M. Adaptación al español de la prueba de teoría de la mente *Hinting Task*. **Rev Psiquiatr Salud Ment (Barc.)**. 2012; 5:79-88.

GIUFFRIDA A, LEWEKE FM, GERTH CW, SCHREIBER D, KOETHE D, FAULHABER J, KLOSTERKOTER J, PIOMELLI D. Cerebrospinal Anandamide Levels are Elevated in Acute Schizophrenia and are Inversely Correlated with Psychotic Symptoms. **Neuropsychopharmacology**. 2004; 29:2108-2114.

GLADKEVICH A, KAUFFMAN HF, KORF J. Lymphocytes as a neural probe: potential for studying psychiatric disorders. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2004 May;28(3):559-76.

GOLDBERG TE, GREEN MF. Neurocognitive Functioning in Patients with Schizophrenia: an Overview. In: DAVIS KL, CHARNEY D, COYLE JT, NEMEROFF C, eds. **Neuropsychopharmacology, The Fifth Generation of Progress**. Baltimore, MD: Lippincott, Williams e Wilkins; 2002; Chapter 48. p. 657-669.

GREEN MF, KERN RS, BRAFF DL, MINTZ J. Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the "right stuff"? **Schizophr Bull**. 2000;26(1):119-36.

GREEN MF, BRAFF DL. Translating the basic and clinical cognitive neuroscience of schizophrenia to drug development and clinical trials of antipsychotic medications. **Biol Psychiatry**. 2001 Feb 15;49(4):374-84.

GREEN MF, NUECHTERLEIN KH. The MATRICS initiative: developing a consensus cognitive battery for clinical trials. **Schizophr Res**. 2004; 72(1):1-3.

GREEN MF, NUECHTERLEIN KH, GOLD JM, BARCH DM, COHEN J, ESSOCK S, FENTON WS, FRESE F, GOLDBERG TE, HEATON RK, KEEFE RS, KERN RS, KRAEMER H, STOVER E, WEINBERGER DR, ZALCMAN S, MARDER SR. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. **Biol Psychiatry**. 2004; 56(5):301-7.

GREEN MF, NUECHTERLEIN KH, KERN RS, BAADE LE, FENTON WS, GOLD JM, KEEFE RS, MESHOLAM-GATELY R, SEIDMAN LJ, STOVER E, MARDER SR. Functional co-primary measures for clinical trials in schizophrenia: results from the MATRICS Psychometric and Standardization Study. **Am J Psychiatry**. 2008;165(2):221-8.

GUY W. Psychopharmacology Research Branch, NIMH. Abnormal Involuntary Scale (AIMS). In: **ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, revised**. DHEW Pub. No (ADM) 76-338. Rockville, MD: National Institute of Mental Health, 1976, pp 534-537.

HAMDANI N, TABEZE JP, RAMOZ N, ADES J, HAMON M, SARFATI Y, BONI C, GORWOOD P. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. **Eur Neuropsychopharmacol**. 2008; 18(1):34-40.

HANISCH UK, KETTENMANN H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. **Nat Neurosci**. 2007 Nov;10(11):1387-94.

HARVEY PD, KEEFE RS. Studies of cognitive change in patients with schizophrenia following novel antipsychotic treatment. **Am J Psychiatry**. 2001 Feb;158(2):176-84.

HEINRICHS RW, ZAKZANIS KK. Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. **Neuropsychology**. 1998 Jul;12(3):426-45.

ILANI T, BEN-SHACHAR D, STROUS RD, MAZOR M, SHEINKMAN A, KOTLER M, FUCHS S. A peripheral marker for schizophrenia: Increased levels of D3 dopamine receptor mRNA in blood lymphocytes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2001 Jan 16;98(2):625-8. Epub 2001 Jan 9.

INSEL TR. Rethinking schizophrenia. **Nature**. 2010 Nov 11;468(7321):187-93.

ISHIGURO H, HORIUCHI Y, ISHIKAWA M, KOGA M, IMAI K, SUZUKI Y, MORIKAWA M, INADA T, WATANABE Y, TAKAHASHI M, SOMEYA T, UJIKE H, IWATA N, OZAKI N, ONAIVI ES, KUNUGI H, SASAKI T, ITOKAWA M, ARAI M, NIIZATO K, IRITANI S, NAKA I, OHASHI J, KAKITA A, TAKAHASHI H, NAWA H, ARINAMI T. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. **Biol Psychiatry**. 2010;67(10):974-82.

JAVITT DC, SPENCER KM, THAKER GK, WINTERER G, HAJÓS M. Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. **Nat Rev Drug Discov**. 2008; Jan;7(1):68-83.

JEON YW, POLICH J. Meta-analysis of P300 and schizophrenia: patients, paradigms, and practical implications. **Psychophysiology**. 2003 Sep;40(5):684-701.

KANO M, OHNO-SHOSAKU T, HASHIMOTODANI Y, UCHIGASHIMA M, WATANABE M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. **Physiol Rev**. 2009 Jan;89(1):309-80.

KAY SR, FISZBEIN A, OPLER LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. **Schizophr Bull**. 1987;13(2):261-76.

KEEFE RS, GOLDBERG TE, HARVEY PD, GOLD JM, POE MP, COUGHENOUR L. The Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia: reliability, sensitivity, and comparison with a standard neurocognitive battery. **Schizophr Res**. 2004; 68(2-3):283-97.

KEEFE RS, POE M, WALKER TM, KANG JW, HARVEY PD. The Schizophrenia Cognition Rating Scale: an interview-based assessment and its relationship to cognition, real-world functioning, and functional capacity. **Am J Psychiatry**. 2006; 163(3):426-32.

KEEFE RS, FENTON WS. How should DSM-V criteria for schizophrenia include cognitive impairment? **Schizophr Bull**. 2007 Jul;33(4):912-20. Epub 2007 Jun 13.

KEEFE RS, BILDER RM, DAVIS SM, HARVEY PD, PALMER BW, GOLD JM, MELTZER HY, GREEN MF, CAPUANO G, STROUP TS, MCEVOY JP, SWARTZ MS, ROSENHECK RA, PERKINS DO, DAVIS CE, HSIAO JK, LIEBERMAN JA; CATIE INVESTIGATORS; NEUROCOGNITIVE WORKING GROUP. Neurocognitive effects of antipsychotic medications in patients with chronic schizophrenia in the CATIE Trial. **Arch Gen Psychiatry**. 2007 Jun;64(6):633-47.

KERN RS, GREEN MF, NUECHTERLEIN KH, DENG BH. NIMH-MATRICES survey on assessment of neurocognition in schizophrenia. **Schizophr Res.** 2004; 72(1):11-9.

KESHAVAN MS, TANDON R, BOUTROS NN, NASRALLAH HA. Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. **Schizophr Res.** 2008 Dec;106(2-3):89-107. Epub 2008 Sep 16.

KESHAVAN MS, NASRALLAH HA, TANDON R. Schizophrenia, "Just the Facts" 6. Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse. **Schizophr Res.** 2011 Apr;127(1-3):3-13. Epub 2011 Feb 12.

KITAMURA T, OKAZAKI Y, FUJINAWA A, YOSHINO M, KASAHARA Y. Symptoms of psychoses. A factor-analytic study. **Br J Psychiatry.** 1995 Feb;166(2):236-40.

KLEGERIS A, BISSONNETTE CJ, MCGEER PL. Reduction of human monocytic cell neurotoxicity and cytokine secretion by ligands of the cannabinoid-type CB2 receptor. **Br J Pharmacol.** 2003 Jun;139(4):775-86.

KOETHE D, LLENOS IC, DULAY JR, HOYER C, TORREY EF, LEWEKE FM, WEIS S. Expression of CB1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. **J Neural Transm.** 2007;114(8):1055-63. Epub 2007 Mar 19.

KOETHE D, GIUFFRIDA A, SCHREIBER D, HELLMICH M, SCHULTZE-LUTTER F, RUHRMANN S, KLOSTERKÖTTER J, PIOMELLI D, LEWEKE FM. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. **Br J Psychiatry.** 2009; 194(4):371-2.

LEIFKER FR, BOWIE CR, HARVEY PD. Determinants of everyday outcomes in schizophrenia: the influences of cognitive impairment, functional capacity, and symptoms. **Schizophr Res.** 2009 Nov;115(1):82-7. Epub 2009 Sep 22.

LEVINE SZ, RABINOWITZ J. Revisiting the 5 dimensions of the Positive and Negative Syndrome Scale. **J Clin Psychopharmacol.** 2007 Oct;27(5):431-6.

LOUZÃ NETO MR. Escalas de Avaliação de Efeitos Colaterais de Antipsicóticos. **Revista de Psiquiatria Clínica.** 1998; 25(6).

MARDER SR, FENTON W. Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia: NIMH MATRICS initiative to support the development of agents for improving cognition in schizophrenia. **Schizophr Res.** 2004; 72(1):5-9

MÄDER-JOQUIM MJ. O Neuropsicólogo e seu Paciente. In MALLOY-DINIZ LF, FUENTES D, MATTOS P, ABREU N, organizadores. **Avaliação Neuropsicológica.** Artmed Editora S.A. Porto Alegre. 2010.

MALLOY-DINIZ LF, FUENTES D, SEDÓ M, LEITE WB. Neuropsicologia das Funções Executivas. In FUENTES D, MALLOY-DINIZ LF, CAMARGO CHP,

COSENZA RM, organizadores. **Neuropsicologia: Teoria e Prática**. Artmed Editora. Porto Alegre. 2008.

MALLOY-DINIZ LF, DE PAULA JJ, LOSCHIAVO-ALVAREZ FQ, FUENTES D, LEITE WB. Exame das Funções Executivas. In MALLOY-DINIZ LF, FUENTES D, MATTOS P, ABREU N, organizadores. **Avaliação Neuropsicológica**. Artmed Editora S.A. Porto Alegre. 2010.

MASSI P, VACCANI A, PAROLARO D. Cannabinoids, immune system and cytokine network. **Curr Pharm Des**. 2006;12(24):3135-46. Review.

MESHOLAM-GATELY RI, GIULIANO AJ, GOFF KP, FARAONE SV, SEIDMAN LJ. Neurocognition in first-episode schizophrenia: a meta-analytic review. **Neuropsychology**. 2009 May;23(3):315-36.

MONJI A, KATO T, KANBA S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. **Psychiatry Clin Neurosci**. 2009 Jun;63(3):257-65. Review.

MONTEIRO LC, LOUZÃ MR. Alterações cognitivas na esquizofrenia: conseqüências funcionais e abordagens terapêuticas. **Rev. Psiq. Clín**. 2007; 34, supl 2; 179-183.

MOORE TH, ZAMMIT S, LINGFORD-HUGHES A, BARNES TR, JONES PB, BURKE M, LEWIS G. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. **Lancet**. 2007 Jul 28;370(9584):319-28.

MORRENS M, HULSTIJN W, SABBE B. Psychomotor slowing in schizophrenia. **Schizophr Bull**. 2007 Jul;33(4):1038-53. Epub 2006 Nov 8.

MORTIMER AM. Cognitive function in schizophrenia--do neuroleptics make a difference? **Pharmacol Biochem Behav**. 1997 Apr;56(4):789-95.

MUESER KT, MCGURK SR. Schizophrenia. **Lancet**. 2004; 363(9426):2063-72.

MÜLLER-VAHL KR, EMRICH HM. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. **Expert Rev Neurother**. 2008 Jul;8(7):1037-48.

NAKAYA M, SUWA H, OHMORI K. Latent structures underlying schizophrenic symptoms: a five-dimensional model. **Schizophr Res**. 1999 Aug 23;39(1):39-50.

NEWELL KA, DENG C, HUANG XF. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. **Exp Brain Res**. 2006 Jul;172(4):556-60. Epub 2006 May 19.

NUECHTERLEIN KH, BARCH DM, GOLD JM, GOLDBERG TE, GREEN MF, HEATON RK. Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. **Schizophr Res**. 2004; 72(1):29-39.

ONAIVI ES. Neuropsychobiological evidence for the functional presence and expression of cannabinoid CB2 receptors in the brain. **Neuropsychobiology**. 2006;54(4):231-46. Epub 2007 Mar 15.

ONAIVI ES, ISHIGURO H, GONG JP, PATEL S, MEOZZI PA, MYERS L, PERCHUK A, MORA Z, TAGLIAFERRO PA, GARDNER E, BRUSCO A, AKINSHOLA BE, HOPE B, LUJILDE J, INADA T, IWASAKI S, MACHARIA D, TEASENFITZ L, ARINAMI T, UHL GR. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. **PLoS One**. 2008 Feb 20;3(2):e1640.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Classificação de Transtornos mentais e de Comportamento da CID-10: Descrições Clínicas e Diretrizes Diagnósticas** – trad. Dorgival Caetano, Porto Alegre: Artes Médicas. 1993.

ORTEGA-ALVARO A, ARACIL-FERNÁNDEZ A, GARCÍA-GUTIÉRREZ MS, NAVARRETE F, MANZANARES J. Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. **Neuropsychopharmacology**. 2011 Jun;36(7):1489-504. Epub 2011 Mar 23.

PALMER BW, DAWES SE, HEATON RK. What do we know about neuropsychological aspects of schizophrenia? **Neuropsychol Rev**. 2009 Sep;19(3):365-84. Epub 2009 Jul 30.

PARKIN J, COHEN B. An overview of the immune system. **Lancet**. 2001 Jun 2;357(9270):1777-89.

PAROLARO D, REALINI N, VIGANO D, GUIDALI C, RUBINO T. The endocannabinoid system and psychiatric disorders. **Exp Neurol**. 2010 Jul;224(1):3-14. Epub 2010 Mar 29.

PIOMELLI D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nat Rev Neurosci**. 2003 Nov;4(11):873-84.

POLICH J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. **Clin Neurophysiol**. 2007; Oct;118(10):2128-48.

POSNER MI, FAN J. Attention as an organ system. In: POMERANTZ JR, CRAI MC editors. *Topics in Integrative Neuroscience: from Cell to Cognition*. Cambridge: Cambridge University Press. 2004.

RACZ I, NADAL X, ALFERINK J, BAÑOS JE, REHNELT J, MARTÍN M, PINTADO B, GUTIERREZ-ADAN A, SANGUINO E, MANZANARES J, ZIMMER A, MALDONADO R. Crucial role of CB(2) cannabinoid receptor in the regulation of central immune responses during neuropathic pain. **J Neurosci**. 2008 Nov 12;28(46):12125-35.

RAZ A. Anatomy of attentional networks. **Anat Rec B New Anat**. 2004 Nov;281(1):21-36.

ROSS CA, MARGOLIS RL, READING SA, PLETNIKOV M, COYLE JT. Neurobiology of schizophrenia. **Neuron**. 2006 Oct 5;52(1):139-53.

SAITO A, BALLINGER MD, PLETNIKOV MV, WONG DF, KAMIYA A. Endocannabinoid system: Potential novel targets for treatment of schizophrenia. **Neurobiol Dis**. 2012; Dec 7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2012.11.020>. [Epub ahead of print]

SALGADO JV, CARVALHAES CFR, PIRES AM, NEVES MCL, CRUZ BF, CARDOSO CS, LAUAR H, TEIXEIRA AL, KEEFE RS. Sensibility and applicability of the Brazilian version of the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS). **Dementia & Neuropsychologia**, 2007; 1(3), 260-265.

SALGADO JV. Neuropsicologia da esquizofrenia. In FUENTES D, MALLOY-DINIZ LF, CAMARGO CHP, COSENZA RM, organizadores. **Neuropsicologia: Teoria e Prática**. Artmed Editora. Porto Alegre. 2008.

SEWELL RA, RANGANATHAN M, D'SOUZA DC. Cannabinoids and psychosis. **Int Rev Psychiatry**. 2009 Apr;21(2):152-62.

SHEEHAN DV, LECRUBIER Y, SHEEHAN KH, AMORIM P, JANAVS J, WEILLER E, HERGUETA T, BAKER R, DUNBAR GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. **J Clin Psychiatry**. 1998; 59 Suppl 20:22-33;quiz 34-57.

SIMPSON GM, ANGUS JW. A rating scale for extrapyramidal side effects. **Acta Psychiatr Scand Suppl**. 1970;212:11-9.

SOLOWIJ N, STEPHENS RS, ROFFMAN RA, BABOR T, KADDEN R, MILLER M, Cognitive functioning of long-term heavy cannabis users seeking treatment. **Journal of the American Medical Association**. 2002; 287:1123-1131.

SOLOWIJ N, MICHIE PT. Cannabis and cognitive dysfunction: parallels with endophenotypes of schizophrenia? **J Psychiatry Neurosci**. 2007; 32(1):30-52.

STEFANIS NC, DELESPAUL P, HENQUET C, BAKOULA C, STEFANIS CN, VAN OS J. Early adolescent cannabis exposure and positive and negative dimensions of psychosis. **Addiction** 2004; 99:1333-1341.

STROUS RD, SHOENFELD Y. Schizophrenia, autoimmunity and immune system dysregulation: a comprehensive model updated and revisited. **J Autoimmun**. 2006 Sep;27(2):71-80. Epub 2006 Sep 25.

TANDON R, KESHAVAN MS, NASRALLAH HA. Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part 1: overview. **Schizophr Res**. 2008a Mar;100(1-3):4-19.

TANDON R, KESHAVAN MS, NASRALLAH HA. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. **Schizophr Res**. 2008b Jul;102(1-3):1-18. Epub 2008 Jun 2.

TANDON R, NASRALLAH HA, KESHAVAN MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res.* 2009 May;110(1-3):1-23. Epub 2009 Mar 27.

TANDON R, NASRALLAH HA, KESHAVAN MS. Schizophrenia, "just the facts" 5. Treatment and prevention. Past, present, and future. **Schizophr Res.** 2010 Sep;122(1-3):1-23. Epub 2010 Jul 23.

TONELLI H, TONELLI D, POIANI GR, VITAL MA, ANDREATINI R. Reliability and clinical utility of a Portuguese version of the Abnormal Involuntary Movements Scale (AIMS) for tardive dyskinesia in Brazilian patients. **Braz J Med Biol Res.** 2003; 36(4):511-4.

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(5):515-8.

UJIKE H, MORITA Y. New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: cannabinoid receptors and schizophrenia. **J Pharmacol Sci.** 2004 Dec;96(4):376-81.

URANOVA NA, ZIMINA IS, VIKHREVA OV, KRUKOV NO, RACHMANOVA VI, ORLOVSKAYA DD. Ultrastructural damage of capillaries in the neocortex in schizophrenia. **World J Biol Psychiatry.** 2010 Apr;11(3):567-78.

URIGÜEN L, GARCÍA-FUSTER MJ, CALLADO LF, MORENTIN B, LA HARPE R, CASADÓ V, LLUIS C, FRANCO R, GARCÍA-SEVILLA JA, MEANA JJ. 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;206(2):313-24. Epub 2009 Aug 4.

VAN OS J, BAK M, HANSSEN M, BIJL RV, DE GRAAF R, VERDOUX H. Cannabis use and psychosis: a longitudinal population-based study. **Am J Epidemiol.** 2002 Aug 15;156(4):319-27.

VAN OS J, KAPUR S. Schizophrenia. **Lancet.** 2009 Aug 22;374(9690):635-45. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60995-8.

VAN OS J, KENIS G, RUTTEN BP. The environment and schizophrenia. **Nature.** 2010 Nov 11;468(7321):203-12.

VAN SICKLE MD, DUNCAN M, KINGSLEY PJ, MOUIHATE A, URBANI P, MACKIE K, STELLA N, MAKRIYANNIS A, PIOMELLI D, DAVISON JS, MARNETT LJ, DI MARZO V, PITTMAN QJ, PATEL KD, SHARKEY KA. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. **Science.** 2005 Oct 14;310(5746):329-32.



VAUTH R, RUSCH N, WIRTZ M, CORRIGAN PW. Does social cognition influence the relation between neurocognitive deficits and vocational functioning in schizophrenia? **Psychiatry Res.** 2004; 128(2):155-65.

VENTURA J, CIENFUEGOS A, BOXER O, BILDER R. Clinical global impression of cognition in schizophrenia (CGI-CogS): Reliability and validity of a co-primary measure of cognition. **Schizophr Res.** 2008; 106(1):59-69.

VERDOUX H, TOURNIER M. Cannabis use and risk of psychosis: an etiological link? **Epidemiol. Psychiatr. Soc.** 2004; 13(2): 113-119.

WOLF SA, ULLRICH O. Endocannabinoids and the brain immune system: new neurones at the horizon? **J Neuroendocrinol.** 2008 May;20 Suppl 1:15-9.

WONG DF, KUWABARA H, HORTI AG, RAYMONT V, BRASIC J, GUEVARA M, YE W, DANNALS RF, RAVERT HT, NANDI A, RAHMIM A, MING JE, GRACHEV I, ROY C, CASCELLA N. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [11C]OMAR. **Neuroimage.** 2010; Oct 1;52(4):1505-13. Epub 2010 Apr 18.

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 Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** 2004 Mar;28(2):355-60.

## **ANEXO**



# Revista Brasileira de Psiquiatria

## RBP Psychiatry

Official Journal of the Brazilian Psychiatric Association  
Volume 34 • Supplement 2 • October/2012



### ARTICLE

## The endocannabinoid system and its role in schizophrenia: a systematic review of the literature

Rodrigo Ferretjans,<sup>1</sup> Fabrício A. Moreira,<sup>1,2</sup> Antônio L. Teixeira,<sup>1,3</sup> João V. Salgado<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup> Neurosciences Post-Graduation Program, Pharmacology Department, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> Pharmacology Department, Biological Sciences Institute, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil

<sup>3</sup> Internal Medicine Department, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil

<sup>4</sup> Morphology Department, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil

<sup>5</sup> Instituto Raul Soares, Hospital Foundation of the State of Minas Gerais (Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, FHEMIG), Brazil

### DESCRIPTORS

Schizophrenia;  
*Cannabis*;  
Endocannabinoids;  
Antipsychotics.

### Abstract

**Objective:** Schizophrenia is a psychiatric disorder whose mechanisms have remained only partially elucidated. The current proposals regarding its biological basis, such as the dopaminergic hypothesis, do not fully explain the diversity of its symptoms, indicating that other processes may be involved. This paper aims to review evidence supporting the involvement of the endocannabinoid system (ECS), a neurotransmitter group that is the target of *Cannabis sativa* compounds, in this disorder. **Methods:** A systematic review of original papers, published in English, indexed in PubMed up to April, 2012. **Results:** Most studies employed genetics and histological, neuroimaging or neurochemical methods - either *in vivo* or *post-mortem* - to investigate whether components of the ECS are compromised in patients. Overall, the data show changes in cannabinoid receptors in certain brain regions as well as altered levels in endocannabinoid levels in cerebrospinal fluid and/or blood. **Conclusions:** Although a dysfunction of the ECS has been described, results are not entirely consistent across studies. Further data are warrant to better define a role of this system in schizophrenia.

Corresponding author: João V. Salgado. Av. Antônio Carlos 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil. Phone: (+55 31) 3409 2545.  
E-mail: jvisal@gmail.com

1516-4446 - ©2012 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

doi:10.1016/j.rbp.2012.07.003

## Introduction

Schizophrenia is a major psychiatric disorder consisting of a diversity of clinical features, which have been grouped as positive, negative and cognitive symptoms.<sup>1,2</sup> The pharmacological approach for its treatment is quite limited and consists mainly of antipsychotic compounds, which are not effective in all the dimensions of this disorder. Almost all of these drugs share a common mechanism of action, which is the antagonism of dopamine receptors.<sup>3</sup>

The biological basis of schizophrenia has been extensively studied and discussed. Based on the mechanisms of antipsychotic medications and other pieces of evidence, the prevalent view is that its symptoms could result from a dysfunction in the dopaminergic neurotransmission, the so called dopaminergic hypothesis.<sup>4,5</sup> There are, however, clear limitations for this hypothesis, as it does not properly explain the complexity of symptoms and its clinical heterogeneity. Apart from dopamine, there are other neurotransmitters that are also in focus, such as serotonin and glutamate.<sup>6,7</sup>

More recently, there has been investigation as to whether the endocannabinoid system (ECS) might be involved in schizophrenia. This neurotransmitter system is named after the herb *Cannabis sativa* ("marijuana"), known as one of the most consumed drugs of abuse. Its main active compound is delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), the prototype of a class of compounds called cannabinoids. Other major natural cannabinoids are cannabidiol (CBD) and cannabinol. The ECS comprises the receptors for the cannabinoids, thus termed cannabinoid type-1 and type-2 receptors (CB1-R and CB2-R); their endogenous ligands, such as arachidonoyl ethanolamide (AEA, also known as anandamide), 2-arachidonoyl glycerol (2-AG), palmitoyl ethanolamide (PEA) and oleoyl ethanolamide (OEA), collectively termed endocannabinoids (eCBs); and the enzymes responsible for their synthesis and catabolism. Anandamide and 2-AG are metabolized by the enzymes fatty acid amide hydrolase (FAAH) and monoacyl glycerol lipase (MAGL), respectively.<sup>8,9</sup> A schematic view of the proposed functioning of the ECS is depicted in Figure 1.

The chronic use of *cannabis* has been pointed as a possible factor leading to psychosis, more specifically schizophrenia. Other comprehensive reviews have focused on this possible link.<sup>10,11,12</sup> The aim of the present paper is to review the literature addressing a putative role of the ECS in the pathophysiology of schizophrenia.

## Method

A search in PubMed database was performed with the terms: "genetic", "central nervous system", "cerebrospinal fluid" (CSF), "serum", "plasma", "blood", "neuroimaging", "PET scan", "fMRI", "post-mortem", individually crossed with "endocannabinoid system", "endocannabinoids", "anandamide", "2-AG", "2-arachidonoyl-glycerol", "cannabinoid receptors", "CNR1", "CB1R", "cannabinoid receptor 2", "CNR2", "CB2R" and "schizophrenia".

The inclusion criteria were: original papers; English language; studying changes of the ECS in schizophrenia (genetic variations in the components of the ECS, changes in cannabinoid receptors in the brain and changes in eCB levels in liquor or blood). Abstracts from scientific meetings were

also included. There was no limit for the year of publication, and the search included papers until April, 2012.

The search retrieved 90 articles, from which 22 were included. An Additional 9 articles were included based on references from these articles, totalling 31 articles on which the review was based. The remaining 68 articles were excluded for the following reasons: review papers (n = 19); studies with new radioligands for the cannabinoid receptor (n = 15); studies in animals (n = 7); studies investigating the effects of *cannabis* in healthy volunteers or schizophrenic patients (n = 10); studies evaluating the link between *Cannabis sativa* use and schizophrenia (n = 3); studies evaluating other outcomes from therapeutic interventions (n = 2); case report (n = 1); comment on an original paper (n = 1); and studies focusing on other disorders and conditions (n = 10).

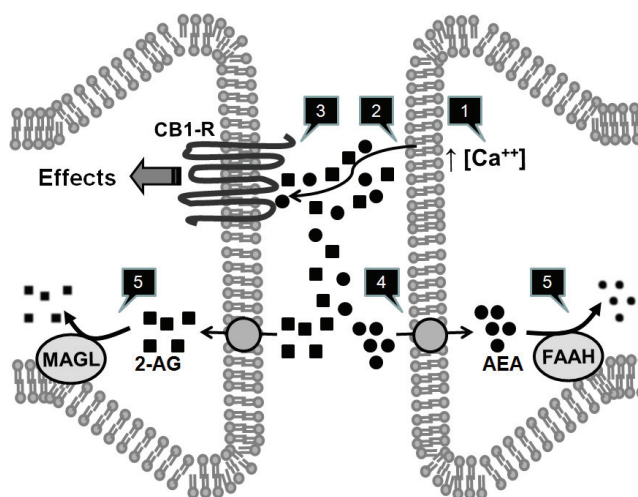
## Results

The studies were divided according to three main strategies to approach the ECS in schizophrenia: investigation of polymorphisms, detection of cannabinoid receptors in brain regions and measurement of eCB levels in CSF or blood.

### Genetic variations in the components of the ECS

Genetic variations related to the components of the ECS have been investigated in several studies. Most of them focused on the relationship between polymorphisms of the CNR1 gene, which encodes for CB1-R, and schizophrenia. This gene is located in the 6q14-q15 chromosomal region, which has been identified as a locus for schizophrenia susceptibility.<sup>13</sup>

The first studies evaluating the relationship between CNR1 variations and schizophrenia obtained negative results (Table 1). Tsai *et al.*<sup>14</sup> did not find any link between the (AAT)<sub>n</sub> triple repeat (AL136096) polymorphism and



**Figure 1** A simplified view of the endocannabinoid system, its main components and mechanisms.

Endocannabinoids (eCBs), anandamide (arachidonoyl ethanolamide, AEA) and 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) are synthesized from the membrane of post-synaptic neurons after calcium influx [1]. They diffuse to the synaptic cleft [2] and exert their effect mainly through the CB1 receptor at pre-synaptic terminals [3]. eCBs action are limited by uptake processes [4] to post- or pre-synaptic neurons for AEA and 2-AG, respectively. AEA is broken down to by an enzyme called fatty acid amide hydrolase (FAAH), whereas 2-AG is metabolized by monoacyl glycerol lipase (MAGL) [5].

schizophrenia in a study comparing 127 Chinese patients with schizophrenia and 146 healthy controls. Leroy *et al.*<sup>15</sup> evaluated a distinct polymorphism from the same gene, 1359 G/A (rs1049353). These authors also did not find any difference in the allele frequency or genotypic distribution between 102 patients with schizophrenia or schizoaffective disorder and 63 controls in a French Caucasian population. Likewise, Zammit *et al.*<sup>16</sup> did not find any relation between this same polymorphism and schizophrenia in 750 patients as compared to 688 controls in a British population. Seifert *et al.*<sup>17</sup> evaluated the association of three polymorphisms from the CNR1 (1359 G/A (rs1049353), (AAT)<sub>n</sub> triple repeat (AL136096) and rs6454674) with schizophrenia in 104 patients and 140 controls in a German population, but did not find differences between these groups. There was a tendency

towards a lower frequency of the (AAT)<sub>10</sub> allele in patients, although the result did not reach statistical significance, possibly due to the low sample size. Hamdani *et al.*<sup>18</sup> also studied the 1359 G/A (rs1049353) polymorphism and, again, did not find any association with schizophrenia in 133 patients as compared to 141 controls in a French population. Despite the negative result, this work did find a higher frequency of the G allele in patients with refractory schizophrenia, which could mean that the 1359 G/A polymorphism would not be related to vulnerability for this disorder, but rather to a response to antipsychotic drugs. In addition, the differences between three other polymorphisms (rs806368, rs806379 and rs806380) were analysed between patients refractory or responsive to antipsychotic treatment, but no association was found. Finally, Morita *et al.*<sup>19</sup> investigated a possible relationship

**Table 1** Genetic variations in the components of the ECS in schizophrenia

Authors	Purpose	Design	Subjects	Polymorphisms	Results	Conclusions
Tsai <i>et al.</i> <sup>14</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>127 patients with Scz</li> <li>146 controls</li> <li>Chinese population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Triple repeat (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	There was not a significant association between CNR1 genotypes and Scz.	Does not support the hypothesis that the triple repeat (AAT) <sub>n</sub> polymorphism is associated with the pathophysiology of Scz.
Leroy <i>et al.</i> <sup>15</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>102 patients with Scz or Schizoaffective disorder</li> <li>63 controls</li> <li>French population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A (rs1049353)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>There was no difference in allelic frequency or genotypic distribution between patients with Scz and controls.</li> <li>gg genotype was less frequent in schizophrenic patients that did not use drugs.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Does not support the hypothesis that the 1359 G/A polymorphism is associated with the pathophysiology of Scz.</li> <li>Suggests that CNR1 genetic variations are related to the risk to use drugs in Scz.</li> </ul>
Ujike <i>et al.</i> <sup>20</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A polymorphism:</li> <li>116 patients with Scz (paranoid: 55; hebephrenic: 61)</li> <li>137 controls</li> <li>(AAT)<sub>n</sub> polymorphism:</li> <li>242 patients with Scz (paranoid: 110; hebephrenic: 128)</li> <li>296 controls</li> <li>Japanese population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A (rs1049353)</li> <li>Triple repeat (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Allelic frequency of (AAT)<sub>n</sub> repeat was different between hebephrenics and controls (higher frequency of (AAT)<sub>9</sub> allele and lower of (AAT)<sub>17</sub> allele).</li> <li>Genotypic distribution of 1359 G/A did not differ between patients and controls.</li> </ul>	Supports the hypothesis that the triple repeat (AAT) <sub>n</sub> polymorphism, but not the 1359 G/A polymorphism, is associated with the pathophysiology of hebephrenic Scz.
Morita <i>et al.</i> <sup>19</sup>	Assess the involvement of FAAH gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>260 patients with Scz (paranoid: 127; hebephrenic: 127; not classified: 6)</li> <li>63 controls</li> <li>Japanese population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pro129Thr (rs324420)</li> </ul>	There was no difference in allelic frequency or genotypic distribution between patients with Scz and controls (regardless the disorder subtype).	Does not support the hypothesis that the Pro129Thr polymorphism is associated with the pathophysiology of Scz.



Martínez-Gras <i>et al.</i> <sup>21</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 113 patients with Scz</li> <li>• 111 controls</li> <li>• Spanish population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Triple repeat (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	Allelic frequency of (AAT) <sub>n</sub> repeat was different between patients and controls (lower frequency of the allele 4 - (AAT) <sub>10</sub> ).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Supports the hypothesis that the triple repeat (AAT)<sub>n</sub> polymorphism is associated with the pathophysiology of Scz.</li> <li>• Allele 4 could be the protective variant for Scz of the CNR1 gene.</li> </ul>
Zammit <i>et al.</i> <sup>16</sup>	Assess the involvement of CNR1 and CHRNA7 genes in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 750 patients with Scz</li> <li>• 688 controls</li> <li>• British population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1359 G/A (rs1049353)</li> </ul>	Genotypic distribution of 1359 G/A did not differ between patients and controls.	Does not support the hypothesis that the 1359 G/A polymorphism is associated with the pathophysiology of Scz.
Seifert <i>et al.</i> <sup>17</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 104 patients with Scz</li> <li>• 140 controls</li> <li>• German population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1359 G/A (rs1049353)</li> <li>• Triple repeat (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> <li>• rs6454674</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Allelic frequency of (AAT)<sub>10</sub> was lower in Scz patients than in controls, but it was not statistically significant.</li> <li>• There was no difference in allelic frequency of 1359 G/A (rs1049353) and rs6454674 polymorphisms between patients and controls.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Does not support the hypothesis that the 1359 G/A (rs1049353) and rs6454674 polymorphisms are associated with the pathophysiology of Scz.</li> <li>• There was a tendency of lower frequency of the (AAT)<sub>10</sub> allele in Scz, maybe not confirmed due to the small sample size.</li> </ul>
Chavarría-Siles <i>et al.</i> <sup>22</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz.	Family-based genetic association analyses.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 66 patients with hebephrenic Scz</li> <li>• 244 patients with Scz (broad phenotype)</li> <li>• Costa Rican population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Triple repeat (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• There was an association between the triple repeat (AAT)<sub>n</sub> polymorphism and patients with hebephrenic Scz (lower frequency of the allele 4 - (AAT)<sub>10</sub>).</li> <li>• There was no association between the polymorphism and patients with Scz (broad phenotype).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Supports the hypothesis that the triple repeat (AAT)<sub>n</sub> polymorphism is associated with the pathophysiology of hebephrenic Scz.</li> <li>• Supports the hypothesis that different genetic and pathophysiological mechanisms can relate to different subtypes of Scz.</li> </ul>
Hamdani <i>et al.</i> <sup>18</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the pathogenesis of Scz and in the APs response.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 133 patients with Scz on atypical APs (responders: 74; non-responders: 59)</li> <li>• 141 controls</li> <li>• French population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1359 G/A (rs1049353)</li> <li>• rs806368</li> <li>• rs806379</li> <li>• rs806380</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• There was no difference in allelic and genotypic frequencies of 1359 G/A (rs1049353) polymorphism between patients and controls.</li> <li>• The allelic frequency of the G allele of 1359 G/A (rs1049353) polymorphism was higher in non-responders Scz patients.</li> </ul>	1359 G/A (rs1049353) polymorphism would not be related to vulnerability to Scz, but to atypical antipsychotic response.

					<ul style="list-style-type: none"> <li>There was no difference in allelic and genotypic frequencies of rs806368, rs806379 and rs806380 polymorphisms between responders and non-responders.</li> </ul>	
Tiwari <i>et al.</i> <sup>23</sup>	Assess the involvement of CNR1 gene in the AP-induced weight gain in Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>183 patients with Scz or Schizoaffective disorder on antipsychotic treatment</li> <li>European (n=117) and African (n=55) ancestry population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>rs806368</li> <li>rs12720071</li> <li>rs1049353</li> <li>rs806369</li> <li>rs806370</li> <li>rs806374</li> <li>rs806375</li> <li>rs806377</li> <li>rs806378</li> <li>rs2023239</li> <li>rs806380</li> <li>rs806381</li> <li>rs7752758</li> <li>rs12528858</li> <li>rs12205430</li> <li>rs6914429</li> <li>rs2180619</li> <li>rs754387</li> <li>rs9450902</li> <li>rs10485170</li> </ul>	Allelic frequency of rs806378 polymorphism (T allele) was higher in European Scz patients that gain more weight on atypical APs (clozapine or olanzapine).	Supports the hypothesis that the rs806378 polymorphism relates to atypical AP-induced weight gain.
Ishiguro <i>et al.</i> <sup>25</sup>	Assess the involvement of CNR2 gene in the pathogenesis of Scz.	Genetic association study.	<ul style="list-style-type: none"> <li>1920 patients with Scz</li> <li>1920 controls</li> <li>Japanese population</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>rs9424339</li> <li>rs2502959</li> <li>rs2501432 (R63Q)</li> <li>rs2229579 (H316T)</li> <li>rs12744386</li> </ul>	Allelic frequencies of rs12744386 and rs2501432 (R63Q) polymorphisms were higher in Scz patients.	Supports the hypothesis that the rs12744386 and rs2501432 (R63Q) polymorphisms of the CNR2 gene are associated with the pathophysiology of Scz.
Ho <i>et al.</i> <sup>24</sup>	Assess interactions between CNR1 gene polymorphisms, <i>cannabis</i> use, cerebral volume and cognitive function in Scz.	Cross-sectional with neuroimaging (MRI) and cognitive battery.	<ul style="list-style-type: none"> <li>52 patients with Scz or Schizoaffective disorder with <i>cannabis</i> abuse/dependence.</li> <li>183 patients with Scz or Schizoaffective disorder without <i>cannabis</i> abuse/dependence.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>rs806365</li> <li>rs806366</li> <li>rs806368</li> <li>rs806374</li> <li>rs806375</li> <li>rs806376</li> <li>rs806380</li> <li>rs7766029</li> <li>rs12720071</li> <li>rs1049353 (1359 G/A)</li> <li>rs6454672</li> <li>rs9450898</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Cannabis</i> users had smaller WM frontotemporal volumes than non-users.</li> <li>Allelic frequencies did not differ between users and non-users.</li> <li>rs12720071 (G allele) carriers had smaller frontotemporal WM volumes than A allele carriers. <i>Cannabis</i> users had even smaller parietal WM volumes.</li> <li>rs7766029 (C allele) had smaller parietotemporal than the T allele</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Suggests that <i>cannabis</i> use associated with specific CNR1 genotypes can contribute to WM alterations and cognitive deficits in a subgroup of Scz patients.</li> <li>Supports the hypothesis that genetic and environmental influences work together to determine the phenotypic expression in Scz.</li> </ul>

carriers and rs9450898 (C allele) had smaller frontotemporal WM volumes than T allele carriers.

- rs12720071 G allele carriers had the worst processing speed/attention and problem-solving tests results.

*Cannabis* users had even worse results on problem solving tests.

between the Pro129Thr (rs324420) polymorphism of the FAAH gene and schizophrenia. No difference was found in a group of 260 patients with schizophrenia (127 paranoids, 127 hebephrenics and 6 not classified) as compared to 63 controls in a Japanese population, regardless of the disorder subtype.

Contrasting these negative results, other studies point to an association between variations in the CNR1 gene and schizophrenia. Ujike *et al.*<sup>20</sup> compared 242 patients (110 paranoids and 128 hebephrenics) with 296 healthy controls in a Japanese population, in relation to the (AAT)<sub>n</sub> triple repeat polymorphism (AL136096), and found a difference in the allelic frequency in hebephrenics versus controls (higher frequency for the (AAT)<sub>9</sub> allele and lower for (AAT)<sub>17</sub>). In the same study, another group of 116 patients and 137 controls were evaluated for differences in 1359 G/A (rs1049353) polymorphism, but no differences were found. Some of these results were replicated by Martínez-Gras *et al.*<sup>21</sup> that found a lower frequency of the (AAT)<sub>10</sub> allele (allele 4) in 113 patients with schizophrenia in comparison to 111 controls in a Spanish population. Chavarría-Siles *et al.*<sup>22</sup> compared 244 patients with schizophrenia, without subtype classification, to 66 patients of the hebephrenic subtype and did not find an association between the (AAT)<sub>n</sub> triple repeat polymorphism (AL136096) and patients with schizophrenia in general, but, similar to Ujike *et al.*,<sup>20</sup> they observed an effect for patients of the hebephrenic subtype (lower frequency of the (AAT)<sub>10</sub> allele). These data reflect the pathophysiologic heterogeneity of schizophrenia and suggest that variations in the CNR1 gene may contribute to the pathogenesis of specific subtypes of this disorder.

Tiwari *et al.*<sup>23</sup> evaluated 20 polymorphisms of the CNR1 gene in 183 patients with schizophrenia or schizoaffective disorder that were on antipsychotic treatment and found higher allelic frequency (allele T) of the rs806378 polymorphism on those patients that gained more weight while using clozapine or olanzapine, which suggests that this genetic variation relates to susceptibility to antipsychotic-induced weight gain.

Ho *et al.*<sup>24</sup> evaluated interactions between CNR1 polymorphisms, *cannabis* use, cerebral volume and cognitive function in an interesting study. They compared 52 patients with schizophrenia or schizoaffective disorder with *cannabis* abuse/dependency and 183 patients without *cannabis* use and observed smaller frontotemporal white matter (WM) volumes in those that smoked *cannabis*. Besides that, patients with rs12720071 polymorphism (G allele) had lower WM volumes

than those with the A allele. Those with the G allele that used *cannabis* had even lower WM volumes. Patients with rs7766029 (C allele) and rs9450898 (C allele) had lower WM volumes than those with the T allele. In the cognitive battery, patients with rs12720071 (G allele) had worse results on processing speed/attention and problem-solving tests. Results on problem-solving tests were even worse in those G allele carriers that smoked *cannabis*. Those results suggest that the use of *cannabis* in association with specific CNR1 genotypes can contribute to alterations in WM and cognitive deficits in a subgroup of schizophrenic patients, which favors the hypothesis that genetic and environmental factors work together to determine the phenotypic expression in schizophrenia.

Only one study focused on variations in the CNR2 gene (which encodes CB2-R) in the pathogenesis of schizophrenia. Ishiguro *et al.*<sup>25</sup> evaluated differences in the allelic frequencies of five CNR2 polymorphisms (rs9424339, rs2502959, rs2501432 (R63Q), rs2229579 (H316T) and rs12744386), comparing 1920 patients with schizophrenia to 1920 controls in a Japanese population. The authors found an association of the polymorphisms rs2501432 (R63Q) and rs12744386 with the disorder. This result supports the hypothesis that variations in the CNR2 gene may participate in the pathophysiology of schizophrenia.

To summarize, most studies refer to (AAT)<sub>n</sub> triple repeat (AL136096) and 1359 G/A (rs1049353) polymorphisms of the CNR1 gene. Among the studies evaluating the (AAT)<sub>n</sub> triple repeat (AL136096) polymorphism, one found an association with schizophrenia,<sup>21</sup> two found associations with schizophrenia of the hebephrenic subtype<sup>20,22</sup> and two did not find any associations between the polymorphism and the disorder.<sup>14,17</sup> Among those evaluating the 1359 G/A (rs1049353)<sup>15-18,20</sup> polymorphism, no study found any association. The only study evaluating variations in the CNR2 gene<sup>25</sup> observed a relationship between two polymorphisms with schizophrenia. The polymorphisms Pro129Thr (rs324420) of the FAAH gene; rs6454674 of the CNR1 gene; as well as rs9424339, rs2502959 and rs2229579 (H316T) of the CNR2 gene did not seem to have any association with the disorder.

### *Changes in cannabinoid receptors in the brain*

Another strategy employed by several authors to investigate the role of the ECS in the pathophysiology of schizophrenia focuses on the determination of the levels of CB1-R in certain brain regions possibly related to this disorder. This has



been performed either in *post-mortem* or *in vivo* studies. *Post-mortem* studies evaluated the density of CB1-R through three main methods: radio-ligand binding assays, immunohistochemistry or polymerase chain reaction (PCR), whereas *in vivo* studies employed neuroimaging techniques. These studies are summarized in Table 2.

The first *post-mortem* study with a radioligand was conducted by Dean *et al.*,<sup>26</sup> who investigated differences in the levels of [<sup>3</sup>H] CP-55940 binding (a CB1-R agonist) in area 9 of the dorsolateral prefrontal cortex (dlPFC), caudato-putamen and hippocampus of 14 patients with schizophrenia and 14 controls. The authors detected an increase of CB1-R density in the dlPFC of the patients, a result not related to *cannabis* consumption. There was no difference in other brain regions. In addition, Dalton *et al.*<sup>27</sup> evaluated the density of CB1-R in another area of the dlPFC (area 46) with the same ligand and found an increase in the density of this receptor in patients with paranoid schizophrenia (n = 16) as compared to controls (n = 37). Zavitsanou *et al.*<sup>28</sup> focused on the anterior cingulate cortex (ACC) using the CB1-R antagonist [<sup>3</sup>H]-SR141716A in 10 patients with schizophrenia versus 10 controls,

describing an increase in CB1-R density. Newell *et al.*<sup>29</sup> also found an increase in CB1-R expression in posterior cingulate cortex (PCC), as revealed by the CB1-R agonist [<sup>3</sup>H]-CP-55940 in eight patients and eight controls. Finally, Deng *et al.*<sup>30</sup> evaluated differences in [<sup>3</sup>H]-SR141716A binding in the superior temporal gyrus (STG), a brain region proposed to be particularly involved in the auditory hallucinations. However, they did not find any difference between patients (n = 8) and controls (n = 8).

Four *post-mortem* studies employed different techniques to measure CB1-R density. Through immunohistochemistry, Koethe *et al.*<sup>31</sup> did not find differences in the ACC of patients with schizophrenia in relation to their controls (n = 15 per group). However, Eggen *et al.*<sup>32</sup> observed a reduction in CB1-R in the dlPFC (area 9), as revealed by protein and mRNA expression of 23 patients and equal number of controls. Likewise, Urigüen *et al.*<sup>33</sup> found reduced CB1-R protein expression (though not mRNA) in this same region in a sample of 31 young patients as compared to 33 controls. Finally, Eggen *et al.*<sup>34</sup> also evaluated CB1-R density in dlPFC, area 46, in two cohorts of patients and controls. In the first,

Table 2 Changes in central endocannabinoid receptors in schizophrenia

Authors	Purpose	Design	Subjects	Brain areas investigated	Results	Conclusions
Dean <i>et al.</i> <sup>26</sup>	Evaluate the density of CB1-R (through the level of the [ <sup>3</sup> H] CP-55940 radioligand binding, CB1 agonist) in brain areas involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using radioligand and autoradiography.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 14 patients with Scz</li> <li>▪ 14 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ dlPFC, area 9</li> <li>▪ CP</li> <li>▪ Temporal lobe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Increase in the density of CB1-R in the dlPFC from subjects with Scz (independent of recent <i>cannabis</i> ingestion).</li> <li>▪ No difference in the density of CB1-R in the CP and in the hippocampus when comparing patients with Scz to controls.</li> <li>▪ Increase in the density of CB1-R in the CP from subjects who had recently ingested <i>cannabis</i> (independent of diagnoses).</li> </ul>	Favors the hypothesis that changes in ECS in the dlPFC are associated with the pathology of Scz.
Zavitsanou <i>et al.</i> <sup>28</sup>	Evaluate the density of CB1-R (through the level of the [ <sup>3</sup> H] SR141716A, radioligand binding, CB1 antagonist) in brain areas involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using radioligand and autoradiography.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 10 patients with Scz</li> <li>▪ 10 controls</li> </ul>	•ACC	Increase in the density of CB1-R in the ACC from subjects with Scz (independent of recent <i>cannabis</i> ingestion).	Favors the hypothesis that changes in ECS in the ACC are associated with the pathology of Scz (mainly negative and cognitive symptoms).
Newell <i>et al.</i> <sup>29</sup>	Evaluate the density of CB1-R (through the level of the [ <sup>3</sup> H] CP-55940 radioligand binding, CB1 agonist) in brain areas involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using radioligand and autoradiography.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 8 patients with Scz</li> <li>▪ 8 controls</li> </ul>	• PCC	Increase in the density of CB1-R in the PCC (superficial layers) from subjects with Scz.	Favors the hypothesis that changes in ECS in the PCC are associated with the pathology of Scz.

Deng <i>et al.</i> <sup>30</sup>	Evaluate the density of CB1-R (through the level of the [3H] SR141716A, radioligand binding, CB1 antagonist) in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using radioligand and autoradiography.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 8 patients with Scz</li> <li>• 8 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• STG</li> </ul>	No difference in the density of CB1-R in the STG when comparing patients with to controls.	Does not favor the hypothesis that CB1-R in the STG is associated with the pathology of Scz.
Koethe <i>et al.</i> <sup>31</sup>	Evaluate the density of CB1-R in brain area involved in Scz, BD and MDD.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using immunohistochemistry.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 15 patients with Scz</li> <li>• 15 patients with BD</li> <li>• 15 patients with MDD</li> <li>• 15 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ACC</li> </ul>	No difference in the density of CB1-R in the ACC when comparing patients with Scz to controls.	Does not favor the hypothesis that CB1-R in the ACC is associated with the pathology of Scz.
Eggen <i>et al.</i> <sup>32</sup>	Evaluate the density of CB1-R (protein and mRNA expression) in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using immunohistochemistry and <i>in situ</i> hybridization.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 23 patients with Scz</li> <li>• 23 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dlPFC, area 9</li> </ul>	Reduction of protein and mRNA expression of CB1-R in the dlPFC (área 9) when comparing patients with Scz to controls	Favors the hypothesis that changes in ECS in the dlPFC (area 9) are associated with the pathology of Scz.
Urigüen <i>et al.</i> <sup>33</sup>	Evaluate the density of CB1-R, dopamine D2 receptor and adenosine A <sub>2A</sub> receptor (protein and mRNA expression) in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using immunoblot and PCR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 31 young patients with Scz that committed suicide (11 treated with atypical AP)</li> <li>• 13 non-Scz suicide victims</li> <li>• 33 non-suicide controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dlPFC, area 9</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduction of protein expression of CB1-R in the dlPFC (área 9) when comparing patients with Scz to controls (independent of suicide).</li> <li>• No difference in the mRNA expression of CB1-R in the dlPFC (área 9) when comparing patients with Scz to controls.</li> </ul>	Favors the hypothesis that changes in ECS in the dlPFC (area 9) are associated with the pathology of Scz and that the use of antipsychotic is related to CB1-R down-regulation in this area.
Wong <i>et al.</i> <sup>35</sup>	Evaluate the density of CB1-R in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>in vivo</i> neuroimaging (PET scan) with radioligand.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 patients with Scz on APs</li> <li>• 10 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• frontal, temporal, parietal, occipital and cingulate cortex, fusiform gyrus, hippocampus, para-hippocampus, insula, putamem, caudato, globus pallidus, thalamus, cerebellum and pons.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Increase in the density of CB1-R in the pons from subjects with schizophrenia.</li> <li>• Positive correlation between CB1-R expression and positive symptoms. Negative correlation between CB1-R expression and negative symptoms.</li> </ul>	Favors the hypothesis that changes in ECS are associated with the pathology of Scz.
Eggen <i>et al.</i> <sup>34</sup>	Evaluate the density of CB1-R in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using immunocytochemistry.	<p>Cohort n° 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 12 patients with Scz</li> <li>• 12 controls</li> </ul> <p>Cohort n° 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 14 patients with Scz</li> <li>• 14 patients with MDD</li> <li>• 14 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dlPFC, area 46</li> </ul>	<p>Cohort n° 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduction of CB1-R density in dlPFC (area 46) from subjects with Scz.</li> </ul> <p>Cohort n° 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduction of CB1-R density in dlPFC (area 46) when comparing patients with Scz to MDD patients and controls.</li> <li>• No difference in the density of CB1-R in the dlPFC when comparing patients MDD to controls.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Favors the hypothesis that changes in ECS in the dlPFC (area 46) are associated with the pathology of Scz.</li> <li>• CB1-R alterations are present in several dlPFC regions and would be specific (not present in MDD) of Scz.</li> </ul>



▼						
Ceccarini et al. <sup>36</sup>	Evaluate the density of CB1-R in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>in vivo</i> neuroimaging (PET scan) with radioligand.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 49 patients with Scz with APs</li> <li>▪ 9 patients with Scz without APs</li> <li>▪ 12 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ NA</li> <li>▪ Insula</li> <li>▪ ACC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Increase in the density of CB1-R in NA from subjects with Scz.</li> <li>▪ Increase in the density of CB1-R in insula and ACC from subjects with Scz on APs.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Favors the hypothesis that changes in ECS in NA, insula and ACC are associated with the pathology of Scz.</li> </ul>
Dalton et al. <sup>27</sup>	Evaluate the density of CB1-R ( <sup>3</sup> H] CP-55940 radioligand binding and mRNA expression) in brain area involved in Scz.	Observational, transversal, <i>post-mortem</i> analysis of brain tissue using radioligand and autoradiography and quantitative PCR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 16 patients with paranoid Scz</li> <li>▪ 21 patients with non-paranoid Scz</li> <li>▪ 37 controls</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ dlPFC, area 46</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Increase in the density of CB1-R in dlPFC (area 46) from subjects with paranoid Scz.</li> <li>▪ No difference in the mRNA expression of CB1-R when comparing patients with schizophrenia to controls.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Favors the hypothesis that changes in ECS in the dlPFC (area 46) are associated with the pathology of paranoid Scz.</li> </ul>

comprising the same group from their previous study, they found reduction in CB1-R density in this brain region. In the second cohort, comprising 14 patients with schizophrenia, 14 with major depression and 14 controls, there was also a reduction in CB1-R density in schizophrenia as compared to controls, as well as to the major depression group.

Regarding *in vivo* studies, there were two investigating the levels of CB1-R in brain through neuroimaging methods. Wong *et al.*<sup>35</sup> employed PET scan to evaluate receptor expression in several brain areas (frontal, temporal, parietal, occipital and cingulate cortices; fusiform gyrus, hippocampus, insula, putamen, caudate nucleus, globus pallidum, thalamus, cerebellum and pons) of 10 patients and equal number of controls. They found a significant increase in receptor expression only in the pons. There was also a tendency in this direction in most of the other regions (except for the fusiform gyrus and the cerebellum). In addition, they found that CB1-R expression correlated directly with positive symptoms and inversely with negative. Ceccarini *et al.*<sup>36</sup> also employed PET scan to evaluate the levels of the receptor in three brain areas (nucleus accumbens, insula and ACC) of 49 patients with schizophrenia treated with antipsychotics, 9 untreated patients and 12 controls. They observed an increase in CB1-R density in the nucleus accumbens, regardless treatment status and an increase in the insula and ACC in treated patients in relation to controls.

To summarize, studies measuring CB1-R expression in schizophrenia yield contradictory results. Five of them evaluated the dlPFC (three focusing on area 9 and two on 46). In area 9, one found an increase<sup>26</sup> and two, a decrease<sup>32,33</sup> in schizophrenia. Regarding area 46, one found an increase<sup>27</sup> and other a decrease.<sup>34</sup> In the ACC, two studies observed higher CB1-R levels,<sup>28,36</sup> whereas another did not find any difference between patients and controls.<sup>31</sup> Otherwise, there was an increase in the PCC,<sup>29</sup> pons,<sup>35</sup> nucleus accumbens and insula.<sup>36</sup> No differences were observed in caudato-putamen, hippocampus<sup>26</sup> and STG.<sup>30</sup>

### Changes in endocannabinoid levels in CSF and blood

In addition to changes in the ECS in brain regions, studies described altered levels of eCBs in the CSF and blood collected from patients. The eight studies retrieved by our search are summarized in Table 3.

Four of them measured the levels of eCBs in the CSF. Leweke *et al.*<sup>37</sup> focused on the levels of AEA and PEA in 10 patients with schizophrenia and 11 controls and found increased levels of AEA in patients. In another study, Giuffrida *et al.*<sup>38</sup> measured AEA, PEA and OEA in four groups: 47 patients with untreated first episode of paranoid schizophrenia; 71 paranoid patients undergoing antipsychotic treatment (36 typical and 35 atypical); 22 patients with mood disorders and 13 patients with dementia syndrome. The levels of AEA were increased, whereas PEA was reduced in the first group of patients. Both eCBs were increased in patients under treatment with atypical antipsychotic. In patients with schizophrenia treated with typical antipsychotic, in those with mood disorders or those with dementia there were no changes in the levels of AEA as compared to controls. The levels of OEA in patients with untreated first episode of paranoid schizophrenia did not differ from controls. Noteworthy, there was a negative correlation between the levels of AEA in the CSF in patients with schizophrenia and the symptoms (as revealed by the Positive and Negative Syndrome Scale, PANSS), suggesting that AEA may represent a modulatory response against the hyperdopaminergic state characteristic of schizophrenia.

In order to evaluate the effects of *cannabis* consumption on the levels of eCBs, in the CSF, Leweke *et al.*<sup>39</sup> measured the levels of AEA, PEA and OEA in 44 patients with schizophrenia and 81 controls, both being divided in subgroups accordingly to high or low *cannabis* consumption. The authors detected a higher level of AEA in the CSF in patients who consumed less *cannabis* as compared to those who used it frequently as well as to the controls. The levels of other eCBs were not altered. There was a negative correlation between the levels of AEA in

Table 3 Changes in endocannabinoid levels in CSF and blood in Schizophrenia

Authors	Objectives	Design	Subjects	Blood x CSF	eCBs	Intervention	Results before the intervention	Results	Conclusions
Leweke <i>et al.</i> <sup>37</sup>	Assess the hypothesis that Scz is related to ECS alterations in CSF.	eCBs quantification through gas-chromatography/mass-spectrometry.	<ul style="list-style-type: none"> <li>10 patients with Scz</li> <li>11 controls</li> </ul>	CSF	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>PEA</li> </ul>	No	N.A.	Higher AEA and PEA levels in Scz.	Supports the hypothesis that CSF ECS alterations are involved in the pathophysiology of Scz.
Yao <i>et al.</i> <sup>41</sup>	Assess the hypothesis that Scz is related to ECS alterations in blood.	eCBs quantification through gas-chromatography/mass-spectrometry.	<ul style="list-style-type: none"> <li>17 patients with Scz FENN</li> <li>20 chronic stable Scz patients (with and without APs)</li> <li>20 controls</li> </ul>	Blood (plasma)	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>2-AG</li> </ul>	No	N.A.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Higher AEA levels in patients with Scz FENN than in controls.</li> <li>Lower 2-AG levels in patients with Scz FENN than in chronic stable Scz patients (without APs).</li> <li>2-AG levels did not differ between Scz FENN and controls.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Supports the hypothesis that blood ECS alterations are involved in the pathophysiology of Scz.</li> <li>Higher AEA plasma levels in Scz appear to be independent of state change, whereas the elevated plasma 2-AG may be related to the progression of illness.</li> </ul>
De Marchi <i>et al.</i> <sup>43</sup>	Assess the hypothesis that Scz is related to ECS alterations in blood.	eCBs quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry and mRNA through PCR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>12 acute Scz patients without treatment</li> <li>Subgroup of 5 remitted Scz patients (post-treatment)</li> <li>20 controls</li> </ul>	Blood	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA (in all groups)</li> <li>FAAH, CB1-R and CB2-R mRNA (patients in acute phase and remission)</li> </ul>	Antipsychotic treatment (olanzapine)	Elevated AEA levels in acute Scz patients.	<ul style="list-style-type: none"> <li>In the remitted Scz patients subgroup (post-treatment);</li> <li>Decrease in AEA levels</li> <li>Decrease in FAAH and CB2-R mRNA</li> <li>There was no difference in CB1-R mRNA levels.</li> </ul>	Supports the hypothesis that blood ECS alterations are involved in the pathophysiology of Scz.
Giuffrida <i>et al.</i> <sup>38</sup>	Assess the hypothesis that eCBs are altered in Scz, but not in other psychiatric disorders.	eCBs quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry.	<ul style="list-style-type: none"> <li>47 patients with paranoid Scz FENN</li> <li>71 patients with paranoid Scz on APs (typical: 36; atypical: 35)</li> <li>22 patients with affective disorders</li> <li>13 patients with dementia</li> <li>84 controls</li> </ul>	CSF and blood (serum)	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>PEA</li> <li>OEA</li> </ul>	No	N.A.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Higher AEA CSF levels and lower PEA CSF levels in patients with Scz FENN than in controls.</li> <li>Higher AEA and PEA CSF levels in patients with Scz on atypical antipsychotic treatment than in controls.</li> </ul>	Supports the hypothesis that CSF ECS alterations are involved in the pathophysiology of Scz.

<p>Assess the hypothesis that the frequency of cannabis use alters CSF and blood AEA levels in Scz.</p>	<p>eCBs quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 44 patients with Scz FENN (2 subgroups: high and low-frequency cannabis use)</li> <li>• 81 controls (2 subgroups: high and low-frequency cannabis use)</li> </ul>	<p>CSF and blood (serum)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• AEA</li> <li>• PEA</li> <li>• OEA</li> </ul>	<p>No</p>	<p>N.A.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AEA CSF levels did not differ between Scz patients on typical APs, patients with affective disorders, dementia patients in psychosis and controls.</li> <li>• OEA CSF levels did not differ between patients with Scz FENN and controls.</li> <li>• AEA blood levels did not differ between all patients groups and controls.</li> <li>• Negative correlation between AEA CSF levels and PANSS in patients with Scz FENN.</li> <li>• Higher AEA CSF levels in patients with low-frequency cannabis use than patients with high-frequency cannabis use and controls.</li> <li>• AEA, PEA and OEA blood levels did not differ between patients and controls.</li> <li>• Negative correlation between AEA CSF levels and PANSS in patients with Scz FENN and low-frequency cannabis use.</li> <li>• Increased central AEA levels would be a modulatory response to the increase of dopamine in psychosis (inhibitory feedback).</li> </ul>
<p>Assess the hypothesis that quetiapine reduces drug use in Scz through ECS modulation.</p>	<p>Intervention study. eCBs quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 27 patients with Scz and substance use</li> <li>• 17 controls</li> </ul>	<p>Blood (plasma)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• AEA</li> <li>• 2-AG</li> <li>• PEA</li> <li>• OEA</li> </ul>	<p>Antipsychotic treatment (quetiapine)</p>	<p>Elevated AEA, PEA and OEA levels in Scz.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-AG levels did not differ between Scz and controls.</li> </ul>	<p>Results do not support the hypothesis that quetiapine reduces drug use in Scz through ECS modulation.</p>

	<p>Assess the hypothesis that the increase in CSF AEA levels is present in the initial phases of Scz.</p> <p>eCBs quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>27 patients with initial prodromal states of psychosis</li> <li>81 controls</li> </ul> <p>CSF and blood (serum)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>OEA</li> </ul> <p>No</p> <p>N.A.</p> <p>Results support the hypothesis that central AEA signaling would protect against psychosis development.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Higher AEA CSF levels in patients with initial prodromal states of psychosis than in controls.</li> <li>AEA blood levels did not differ between patients and controls.</li> <li>OEA CSF and blood levels did not differ between patients and controls.</li> <li>Negative correlation between CSF AEA levels and PANSS (cognitive syndrome).</li> </ul>	<p>Assess alterations in pFAA levels in Scz.</p> <p>pFAA quantification through liquid-chromatography/mass-spectrometry.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>70 patients with paranoid Scz FENN</li> <li>74 patients with acute paranoid Scz on APs (typical: 40; atypical: 34)</li> <li>37 patients with affective disorders</li> <li>59 controls</li> </ul> <p>Blood (serum)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>pFAA</li> </ul> <p>No</p> <p>N.A.</p> <p>Supports the hypothesis that ECS alterations are involved in the pathophysiology of Scz.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Higher pFAA levels in patients with paranoid Scz FENN than in controls.</li> <li>Normalization of pFAA levels in Scz patients on typical APs.</li> <li>pFAA levels remained elevated in Scz patients on atypical APs.</li> <li>Higher pFAA levels in patients with affective disorders than in controls.</li> </ul>	<p>ACC: anterior cingulate cortex; AEA: anandamide; AP: antipsychotic; BD: bipolar disorder; CB1-R: CB1 receptor; CB2-R: CB2 receptor; CNR1: CB1-R gene; CHRNA7: alfa-7 nicotinic receptor; CNR2: CB2-R gene; CP: caudato-putamen; CSF: cerebro-spinal fluid; dlPFC: dorso-lateral pre-frontal cortex; eCB: endocannabinoid; ECS: endocannabinoid system; FAAH: fatty acid amide hydrolase; FENN: first-episode neuroleptic-naïve; MDD: major depressive disorder; MRI: magnetic resonance imaging; mRNA: messenger RNA; NA: nucleus accumbens; N.A.: not applied; OEA: oleoethanolamide; PCC: posterior cingulate cortex; PCR: polymerase chain reaction; PEA: palmitoylethanolamide; PET: positron emission tomography; pFAA: primary fatty acid amide (oleoamide, linoleamide, linoleamide, heptadecenoic amide, palmitic amide and palmitoleic amide); Scz: schizophrénia; STG: superior temporal gyrus; WM: white matter; 2-AG: 2-acil-glycerol.</p>
<p>Patients improved substance use severity scores and positive, negative and depressive symptoms.</p>			

the CSF and the PANSS score, but only in the low consumption patient subgroup. The authors suggested that heavy *cannabis* use by subjects with a hyperactive ECS may down-regulate AEA signalling in the central nervous system and disrupt the eCB modulation over the dopaminergic system.<sup>39</sup>

Koethe *et al.*<sup>40</sup> tested the hypothesis that the increase in eCBs in schizophrenia could be detected in the early stages of the disorder. Thus, they measured the levels of AEA and OEA in 27 psychotic patients in the prodromic phase and 81 controls. The levels of AEA, but not OEA were increased in the patients. Again, there was an inverse correlation between the PANSS score, although only with the cognitive dimensions. Patients in prodromic stage with higher levels of AEA in the CSF tend to develop less psychosis, supporting the hypothesis that the ECS might exert a modulatory role upon the dopaminergic system that, in turn, protect against positive symptoms. Giuffrida *et al.*,<sup>38</sup> Leweke *et al.*<sup>39</sup> and Koethe *et al.*<sup>40</sup> also measured the levels of AEA, PEA and OEA in the blood (serum), but did not observe differences in relation to controls. By contrast Yao *et al.*<sup>41</sup> measured AEA and 2-AG in 17 untreated first episode patients with schizophrenia, 20 stable patients and 20 controls. They observed an increase in AEA in the first group in relation to controls, and reduced levels of 2-AG in relation to stable patients. Shwarz *et al.*<sup>42</sup> measure fatty acid amides (FAAs, a class of lipids that include the eCBs) in 70 untreated patients with paranoid schizophrenia, 74 patients with paranoid schizophrenia undergoing antipsychotic therapy (34 with atypical and 40 with typical antipsychotic), 37 patients with mood disorders and 59 controls. They observed that the levels of FAAs were increased in untreated patients with schizophrenia in relation to controls and that these levels were normalized in patients treated with typical, but not atypical antipsychotic.

Finally, two studies evaluated the blood levels of eCBs before and after treatment with antipsychotics. De Marchi *et al.*<sup>43</sup> measured AEA and mRNA for FAAH, for CB1-R and for CB2-R in the blood of 12 patients with schizophrenia presenting acute psychosis and 20 controls. Before treatment, AEA levels were higher in patients, but after olanzapine treatment and improvement in positive symptoms in 5 patients, AEA levels were similar to controls. There was also a reduction in FAAH and CB2-R mRNA, but not CB1-R mRNA. Potvin *et al.*<sup>44</sup> tested the hypothesis that quetiapine could help to reduce drug abuse in patients with schizophrenia through modulation of the ECS. They quantified the levels of AEA, 2-AG, PEA and OEA in 27 addicted patients with schizophrenia and 17 controls. Before treatment, the levels of AEA, PEA and OEA, but not 2-AG, were increased. After 12 weeks on quetiapine treatment, there was a reduction in drug abuse and improvement in positive, negative and depressive symptoms, but no reduction in AEA, PEA or OEA levels.

In summary, four studies detected an increase in the levels of AEA in the CSF.<sup>37-40</sup> Regarding measures in the blood, three also reached this result,<sup>41,43,44</sup> whereas other three did not find any difference.<sup>38,39,40</sup> The levels of 2-AG in the blood were found to be reduced in one study<sup>41</sup> and unchanged in another.<sup>44</sup> The levels of OEA in the CSF did not differ from controls in two studies,<sup>38,39</sup> although in the blood they were either higher<sup>44</sup> or unchanged.<sup>39,40</sup> One study found that the levels of PEA in the CSF were increased in patients receiving atypical antipsychotics and reduced in the untreated.<sup>38</sup> Other

studies found that the blood levels were either increased<sup>44</sup> or unchanged.<sup>40</sup> The treatment with atypical antipsychotics was inversely correlated with the levels of AEA in the blood in two studies,<sup>38,43</sup> but another one did not find any change.<sup>44</sup> As for typical AP, their use changed AEA and FAAs to levels similar to controls.<sup>38,42</sup>

## Conclusion

The present systematic review described the literature investigating changes in the ECS in patients suffering from schizophrenia. The original papers reviewed here studied genetic polymorphisms, the expression of cannabinoid receptors in specific brain regions and levels of eCBs in CSF or blood.

So far, it is difficult to draw any consistent theory on the role of the ECS in this major psychiatric disorder. Taking into account the acute effects of *Cannabis sativa* and cannabinoids, which induce psychotomimetic effects,<sup>45</sup> and the epidemiologic evidence suggesting that chronic consumption of *Cannabis* may be a predisposing factor to schizophrenia,<sup>10,11,12</sup> there is a rationale to link changes in the ECS to symptoms in this disorder. Indeed, an endocannabinoid hypothesis of schizophrenia has been proposed.<sup>46</sup> Nonetheless, from the studies retrieved in our review, no clear picture has emerged.

This topic is relevant not only for theoretical reasons. The current pharmacological therapy of schizophrenia is limited to the antagonism of dopamine receptors, which presents limited efficacy and significant side effects.<sup>3</sup> Thus, alternative pharmacological strategies must be pursued and one approach involves the characterization of other neurotransmitters systems affected in this disorder. Such a strategy has been put into practice, for instance, with the glutamate system. Based on the theory that schizophrenia might be related to a low functioning of glutamate, there have been attempts to develop drugs that enhance this neurotransmitter.<sup>6,7</sup> As for the ECS, it has been investigated whether CB1-R antagonism induces antipsychotic effects, as a corollary to the psychotomimetic effects of cannabinoids, which activate this receptor. However, results to date have been mixed.<sup>47</sup> Studies in experimental animals have also been inconsistent.<sup>48</sup>

In conclusion, despite several studies investigating changes in the ECS in schizophrenia, it remains uncertain whether a malfunctioning of this system would be consistently related to the disorder.

## Disclosures

Rodrigo Ferretjans

Employment: Neurosciences Post-Graduation Program, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil.

Fabrcio A. Moreira

Employment: Neurosciences Post-Graduation Program, Pharmacology Department, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil.

Antônio L. Teixeira

Employment: Neurosciences Post-Graduation Program, Internal Medicine Department, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil.

João V. Salgado

Employment: Neurosciences Post-Graduation Program; Instituto Raul Soares - FHEMIG; Morphology Department, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil.

The authors have no conflict of interest related to the topic of this article.

\* Modest

\*\* Significant

\*\*\* Significant. Amounts given to the author's institution or to a colleague for research in which the author has participation, not directly to the author.

## References

1. Freedman R. Schizophrenia. *N Engl J Med.* 2003;349(18):1738-49.
2. Van Os J, Kapur S. Schizophrenia. *Lancet.* 2009;374(9690):635-45.
3. Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003;27(7):1081-90.
4. Carlsson ML, Carlsson A, Nilsson M. Schizophrenia: from dopamine to glutamate and back. *Curr Med Chem.* 2004;11(3):267-77.
5. Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2003;160(1):13-23.
6. Kantrowitz J, Javitt DC. Glutamatergic transmission in schizophrenia: from basic research to clinical practice. *Curr Opin Psychiatry.* 2012;25(2):96-102.
7. Meltzer HY, Horiguchi M, Massey BW. The role of serotonin in the NMDA receptor antagonist models of psychosis and cognitive impairment. *Psychopharmacology (Berl).* 2011;213(2-3):289-305.
8. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev.* 2002;54(2):161-202.
9. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SP, Di Marzo V, Elphick MR, Greasley PJ, Hansen HS, Kunos G, Mackie K, Mechoulam R, Ross RA. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub>. *Pharmacol Rev.* 2010;62(4):588-631.
10. Cohen M, Solowij N, Carr V. *Cannabis*, cannabinoids, and schizophrenia: integration of the evidence. *Aust N Z J Psychiatry.* 2008;42(5):357-68.
11. Hall W, Solowij N. Adverse effects of *cannabis*. *Lancet.* 1998;352(9140):1611-6.
12. Murray RM, Morrison PD, Henquet C, Di Forti M. *Cannabis*, the mind and society: the harsh realities. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(11):885-95.
13. Cao Q, Martinez M, Zhang J, Sanders AR, Badner JA, Cravchik A, Markey CJ, Beshah E, Guroff JJ, Maxwell ME, Kazuba DM, Whiten R, Goldin LR, Gershon ES, Gejman PV. Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics.* 1997;43(1):1-8.
14. Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ. Association study of a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 2000;10(3):149-51.
15. 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.* 2001;105(8):749-52.
16. Zammit S, Spurlock G, Williams H, Norton N, Williams N, O'Donovan MC, Owen MJ. Genotype effects of CHRNA7, CNR1, and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and *cannabis* use. *Br J Psychiatry.* 2007;191:402-7.
17. Seifert J, Ossege S, Emrich HM, Schneider U, Stuhmann M. No association of CNR1 gene variations with susceptibility to schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2007;426(1):29-33.
18. Hamdani N, Tabeze JP, Ramoz N, Ades J, Hamon M, Sarfati Y, Boni C, Gorwood P. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008;18(1):34-40.
19. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2005;376(3):182-7.
20. 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(5):515-8.
21. Martínez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero MA, Pérez-Hernández E, Ampuero I, Ramos-Atance JA, 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(7):437-41.
22. Chavarría-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, Walss-Bass C, Quezada P, Dassori A, Contreras S, Medina R, Ramírez M, Salazar R, Raventos H, Escamilla MA. Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147(3):279-84.
23. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Lisker A, Singh D, Souza RP, Batra P, Zaidi SH, Chen S, Liu F, Puls I, Meltzer HY, Lieberman JA, Kennedy JL, Müller DJ. A common polymorphism in the cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene is associated with antipsychotic-induced weight gain in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(6):1315-24.
24. Ho BC, 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;128(1-3):66-75.
25. Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T, Watanabe Y, Takahashi M, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Onaivi ES, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Naka I, Ohashi J, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2010;67(10):974-82.
26. 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;103(1):9-15.
27. Dalton VS, Long LE, Weickert CS, Zavitsanou K. Paranoid schizophrenia is characterized by increased CB1 receptor binding in the dorsolateral prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology.* 2011;36(8):1620-30.
28. 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 Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2004;28(2):355-60.
29. Newell KA, Deng C, Huang XF. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp Brain Res.* 2006;172(4):556-60.
30. Deng C, Han M, Huang XF. No changes in densities of cannabinoid receptors in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *Neurosci Bull.* 2007;23(6):341-7.
31. Koethe D, Llenos IC, Dulay JR, Hoyer C, Torrey EF, Leweke FM, Weis S. Expression of CB1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *J Neural Transm.* 2007;114(8):1055-63.
32. Eggan SM, Hashimoto T, Lewis DA. Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(7):772-84.



33. Urigüen L, García-Fuster MJ, Callado LF, Morentin B, La Harpe R, Casadó V, Lluís C, Franco R, García-Sevilla JA, Meana JJ. 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;206(2):313-24.
34. 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;35(10):2060-71.
35. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, Raymont V, Brasic J, Guevara M, Ye W, Dannals RF, Ravert HT, Nandi A, Rahmim A, Ming JE, Grachev I, Roy C, Cascella N. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [<sup>11</sup>C]OMAR. *Neuroimage*. 2010;52(4):1505-13.
36. Ceccarini J, De Hert M, van Winkel R, Koethe D, Bormans G, Leweke M, Peuskens J, Van Laere K. In vivo PET imaging of cerebral type 1 cannabinoid receptor availability in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2010;117(2):170.
37. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*. 1999;10(8):1665-9.
38. Giuffrida A, Leweke FM, Gerth CW, Schreiber D, Koethe D, Faulhaber J, Klosterkötter J, Piomelli D. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(11):2108-14.
39. Leweke FM, Giuffrida A, Koethe D, Schreiber D, Nolden BM, Kranaster L, Neatby MA, Schneider M, Gerth CW, Hellmich M, Klosterkötter J, Piomelli D. Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of *cannabis* use. *Schizophr Res*. 2007;94(1-3):29-36.
40. Koethe D, Giuffrida A, Schreiber D, Hellmich M, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S, Klosterkötter J, Piomelli D, Leweke FM. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br J Psychiatry*. 2009 Apr;194(4):371-2. Erratum in: *Br J Psychiatry*. 2011; 198(6):495.
41. Yao JK, van Kammen DP, Reddy RD, Keshavan MS, Schmid PC, Berdyshev EV, Krebsbach RJ, Schmid HHO. Elevated endocannabinoids in plasma from patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2002;51:64S-65S.
42. Schwarz E, Whitfield P, Nahnsen S, Wang L, Major H, Leweke FM, Koethe D, Lio P, Bahn S. Alterations of primary fatty acid amides in serum of patients with severe mental illness. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011;3:308-14.
43. 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;2:5.
44. Potvin S, Kouassi E, Lipp O, Bouchard RH, Roy MA, Demers MF, Gendron A, Astarita G, Piomelli D, Stip E. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol*. 2008;22(3):262-9.
45. D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, Braley G, Gueorguieva R, Krystal JH. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(8):1558-72.
46. Müller-Vahl KR, Emrich HM. *Cannabis* and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev Neurother*. 2008;8(7):1037-48.
47. Roser P, Vollenweider FX, Kawohl W. Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (CB1) receptor antagonists. *World J Biol Psychiatry*. 2010;11(2 Pt 2):208-19.
48. Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. The endocannabinoid system and psychiatric disorders. *Exp Neurol*. 2010;224(1):3-14.



# Revista Brasileira de Psiquiatria

## RBP Psychiatry

Official Journal of the Brazilian Psychiatric Association  
Volume 34 • Supplement 2 • October/2012



### ARTIGO

## O sistema endocanabinoide e seu papel na esquizofrenia: uma revisão sistemática da literatura

Rodrigo Ferretjans,<sup>1</sup> Fabrício A. Moreira,<sup>1,2</sup> Antônio L. Teixeira,<sup>1,3</sup> João V. Salgado<sup>1,4,5</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Neurociências, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

<sup>4</sup> Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

<sup>5</sup> Instituto Raul Soares, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, FHEMIG, Brasil

### DESCRITORES

Esquizofrenia;  
*Cannabis*;  
Endocanabinoides;  
Antipsicóticos.

### Resumo

**Objetivo:** A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico cujos mecanismos permanecem apenas parcialmente elucidados. As atuais propostas relativas à base biológica, tais como a hipótese dopaminérgica, não explicam por completo a diversidade de seus sintomas, o que indica que outros processos podem estar envolvidos. Este artigo tem como objetivo revisar indícios que sustentem o envolvimento do sistema endocanabinoide (SECB), um grupo de neurotransmissores-alvo dos compostos da *Cannabis sativa*, nesse transtorno. **Métodos:** Revisão sistemática dos artigos originais, publicados em inglês e indexados no PubMed até abril de 2012. **Resultados:** A maioria dos estudos empregou métodos neuroquímicos ou de neuroimagem genéticos e histológicos - tanto *in vivo* quanto *post-mortem* - para investigar se os componentes do SECB estão comprometidos nos pacientes. De modo geral, os dados mostram mudanças nos receptores canabinoides em determinadas regiões cerebrais, bem como a alteração dos níveis de endocanabinoides no líquido cefalorraquidiano e/ou no sangue. **Conclusões:** Ainda que a disfunção do SECB tenha sido descrita, os resultados dos estudos não são totalmente consistentes. São necessários mais dados para definir melhor o papel desse sistema na esquizofrenia.

Correspondência para: João V. Salgado. Av. Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Telefone: (+55 31) 3409-2545. E-mail: jvisal@gmail.com

1516-4446 - ©2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

doi:10.1016/j.rbp.2012.07.003

## Introdução

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico que apresenta diversas características clínicas, as quais foram agrupadas como sintomas positivos, negativos e cognitivos.<sup>1,2</sup> A abordagem farmacológica para esse tratamento é um tanto limitada e consiste, basicamente, de compostos antipsicóticos, que não são eficazes em todas as dimensões dessa desordem. Quase todas essas drogas compartilham de um mecanismo de ação comum, que é o antagonismo dos receptores de dopamina.<sup>3</sup>

A base biológica da esquizofrenia tem sido amplamente estudada e discutida. Com base nos mecanismos dos medicamentos antipsicóticos e em outras evidências, a visão corrente é a de que os sintomas poderiam ser a consequência da disfunção da neurotransmissão dopaminérgica, a chamada hipótese dopaminérgica.<sup>4,5</sup> Há, no entanto, limitações claras para essa hipótese, já que não explica adequadamente a complexidade dos sintomas e a heterogeneidade clínica. Além da dopamina, há outros neurotransmissores em foco, como a serotonina e o glutamato.<sup>6,7</sup>

Evidências recentes apontam para o possível envolvimento do sistema endocanabinoide (SECB) na esquizofrenia. Esse sistema neurotransmissor leva o nome da erva *Cannabis sativa* (maconha), umas das drogas de abuso mais consumidas. Seu composto ativo é o delta-9-tetra-hidrocanabinol (THC), o protótipo da classe dos compostos denominados canabinoides. Outros importantes canabinoides naturais são o canabidiol (CBD) e o canabinol. O SECB abrange os receptores canabinoides, cunhados como receptores canabinoides do tipo 1 e do tipo 2 (CB1-R e CB2-R); os ligantes endógenos, tais como o araquidonoil etanolamina (AEA, também chamada de anandamida); 2-araquidonoil-glicerol (2-AG); palmitoil etanolamina (PEA) e oleoil etanolamina (OEA), coletivamente chamados de endocanabinoides (eCBs); e as enzimas responsáveis pela síntese e pelo catabolismo dos endocanabinoides. A anandamida e o 2-AG são metabolizados pelas enzimas amida hidrolase de ácido graxo (FAAH) e a lipase monoacilglicerol (MAGL), respectivamente.<sup>8,9</sup> A Figura 1 mostra a visão esquemática do funcionamento do SECB.

O uso crônico da *cannabis* foi apontado como um possível fator causador da psicose, mais especificamente da esquizofrenia. Outras revisões amplas focaram nessa possível ligação.<sup>10,11,12</sup> O objetivo deste artigo é revisar a literatura que indica um papel do SECB na fisiopatologia da esquizofrenia.

## Métodos

Foi feita uma busca na base de dados do PubMed com os termos *genetic, central nervous system, cerebrospinal fluid* (líquor), *serum, plasma, blood, neuroimaging, PET scan, fMRI e post-mortem*, cruzados individualmente com *endocannabinoid system, endocannabinoids, anandamide, 2-AG, 2-arachidonoyl-glycerol, cannabinoid receptors, CNR1, CB1R, cannabinoid receptor 2, CNR2, CB2R e schizofrenia*.

Os critérios de inclusão foram: artigos originais; em língua inglesa; estudo que avaliaram alterações do SECB na esquizofrenia (variações genéticas nos componentes do SECB, mudanças nos receptores canabinoides no cérebro e mudanças nos níveis eCB no líquido ou no sangue). Resumos de encontros científicos também foram incluídos. O ano de

publicação não foi limitado e a busca incluiu artigos publicados até abril de 2012.

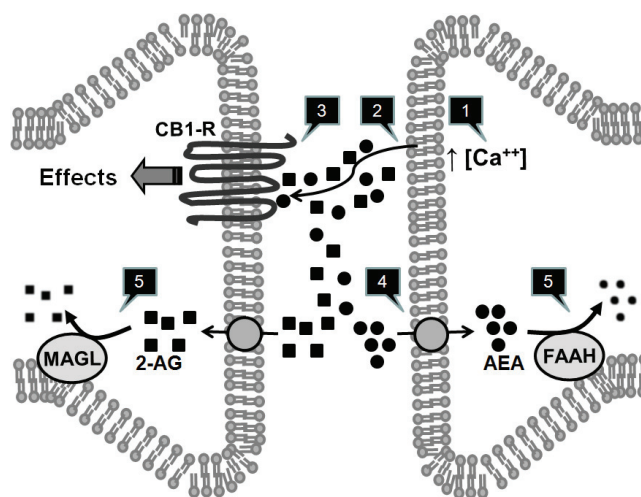
A busca recuperou 90 artigos, dos quais 22 foram incluídos. Mais nove foram incluídos com base nas referências desses 22, totalizando 31 nos quais esta revisão se baseou. Os 68 restantes foram excluídos pelas seguintes razões: artigos de revisão (n = 19); estudos com novos radioligantes para o receptor canabinoide (n = 15); estudos em animais (n = 7); estudos que investigavam os efeitos da *cannabis* em voluntários saudáveis ou pacientes esquizofrênicos (n = 10); estudos que avaliavam a ligação entre o uso da *Cannabis sativa* e a esquizofrenia (n = 3); estudos que avaliavam outros resultados de intervenções terapêuticas (n = 2); estudo de caso (n = 1); comentários sobre um artigo original (n = 1); e estudos com foco em outros transtornos e outras doenças (n = 10).

## Resultados

Os estudos foram divididos de acordo com três estratégias principais de abordagem do SECB na esquizofrenia: investigação de polimorfismos, detecção de receptores canabinoides nas regiões cerebrais e medição dos níveis do eCB no líquido ou no sangue.

### Variações genéticas nos componentes do secb

As variações genéticas relacionadas aos componentes do SECB foram investigadas em alguns estudos. A maioria focou na relação entre polimorfismos do gene *CNR1*, que codifica CB1-R e a esquizofrenia. Esse gene está localizado na região cromossômica 6q14-q15, que foi identificada como um locus de suscetibilidade para a esquizofrenia.<sup>13</sup>



**Figura 1** Uma visão simplificada do sistema endocanabinoide, seus principais componentes e mecanismos.

Os endocanabinoides (eCBs) anandamida (araquidonoil etanolamina, AEA) e 2-araquidonoil glicerol (2-AG) são sintetizados a partir da membrana dos neurônios pós-sinápticos após o influxo de cálcio [1]. Eles se propagam para a fenda sináptica [2] e atuam principalmente por meio do receptor CB1 nos terminais pré-sinápticos [3]. As ações dos eCBs estão limitadas aos processos de captação [4] para neurônios pós e pré-sinápticos para AEA e 2-AG, respectivamente. A AEA é quebrada por uma enzima chamada amida hidrolase de ácido graxo (FAAH), enquanto que 2-AG é metabolizado por lipase monoacilglicerol (MAGL) [5].

Os primeiros estudos que avaliaram a relação entre as variações de CNR1 e a esquizofrenia obtiveram resultados negativos (Tabela 1). Tsai *et al.*<sup>14</sup> não encontraram ligação entre o polimorfismo (AL136096) com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> e a esquizofrenia em um estudo que compara 127 pacientes chineses com esquizofrenia e 146 controles saudáveis. Leroy *et al.*<sup>15</sup> avaliaram um polimorfismo diferente do mesmo gene, 1359 G/A (rs1049353). Esses autores também não encontraram quaisquer diferenças quanto à frequência alélica ou à distribuição genotípica entre 102 pacientes com esquizofrenia ou transtorno esquizoafetivo e 63 controles em uma população francesa caucasiana. De forma semelhante, Zammit *et al.*<sup>16</sup> não encontraram qualquer relação entre esse mesmo polimorfismo e a esquizofrenia em 750 pacientes, se comparados a 688 controles em uma população britânica. Seifert *et al.*<sup>17</sup> avaliaram a associação entre os

três polimorfismos de CNR1 (1359 G/A [rs1049353], [AAT]<sub>n</sub> repetição tripla [AL136096] e rs6454674) com esquizofrenia em 104 pacientes e 140 controles em uma população alemã, mas não encontraram diferenças entre esses grupos. Houve uma tendência em direção à menor frequência do alelo (AAT)<sub>10</sub> em pacientes, embora o resultado não tenha atingido significância estatística, possivelmente devido ao tamanho reduzido da amostra. Hamdani *et al.*<sup>18</sup> também estudaram o polimorfismo 1359 G/A (rs1049353) e, novamente, não encontraram associação com a esquizofrenia em 133 pacientes, se comparados aos 141 controles em uma população francesa. Apesar dos resultados negativos, o trabalho mencionado encontrou uma frequência maior do alelo G em pacientes com esquizofrenia refratária, o que poderia significar que o polimorfismo 1359 G/A não estaria relacionado à vulnerabilidade para esse transtorno, mas sim a uma resposta a drogas

Tabela 1 Variações genéticas nos componentes do SECB na esquizofrenia

Autores	Objetivo	Tipo	Sujeitos	Polimorfismos	Resultados	Conclusões
Tsai <i>et al.</i> <sup>14</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 127 pacientes com esquizofrenia</li> <li>• 146 controles</li> <li>• População chinesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não houve associação significativa entre os genótipos do gene CNR1 e esquizofrenia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não sustenta a hipótese de que o polimorfismo com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> está associado à patofisiologia de ESQ.</li> </ul>
Leroy <i>et al.</i> <sup>15</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 102 pacientes com ESQ ou transtornos esquizoafetivos</li> <li>• 63 controles</li> <li>• População francesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1359 G/A (rs1049353)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não houve diferença na frequência alélica ou na distribuição genotípica entre pacientes com ESQ e controles.</li> <li>• O genótipo gg foi menos frequente em pacientes esquizofrênicos que não usavam drogas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não sustenta a hipótese de que o polimorfismo 1359 G/A está associado à patofisiologia de ESQ.</li> <li>• Sugere que as variações genéticas de CNR1 estão relacionadas ao risco de se usarem drogas na ESQ.</li> </ul>
Ujike <i>et al.</i> <sup>20</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polimorfismo 1359 G/A:</li> <li>• 116 pacientes com ESQ (paranoides: 55; hebefrênicos: 61)</li> <li>• 137 controles</li> <li>• Polimorfismo (AAT)<sub>n</sub>:</li> <li>• 242 pacientes com ESQ (paranoides: 110; hebefrênicos: 128)</li> <li>• 296 controles</li> <li>• População japonesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1359 G/A (rs1049353)</li> <li>• Repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A frequência alélica da repetição de (AAT)<sub>n</sub> foi diferente entre hebefrênicos e controles (frequência mais alta do alelo de [AAT]<sub>9</sub> e mais baixa do alelo de [AAT]<sub>17</sub>).</li> <li>• Não houve diferença na distribuição tripla de 1359 G/A entre pacientes e controles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sustenta a hipótese de que o polimorfismo com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub>, mas não o polimorfismo 1359 G/A, está associado à patofisiologia de ESQ hebefrênica.</li> </ul>
Morita <i>et al.</i> <sup>19</sup>	Avaliar o envolvimento do gene FAAH na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 260 pacientes com ESQ (paranoides: 127; hebefrênicos: 127; não classificados: 6)</li> <li>• 63 controles</li> <li>• População japonesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pro129Thr (rs324420)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não houve diferença quanto à frequência alélica ou distribuição fenotípica entre pacientes com ESQ e controles (independentemente do subtipo do transtorno).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não sustenta a hipótese de que o polimorfismo Pro129Thr está associado à patofisiologia de ESQ.</li> </ul>



Martínez-Gras <i>et al.</i> <sup>21</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>113 pacientes com ESQ</li> <li>111 controles</li> <li>População espanhola</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	Houve diferença quanto à frequência alélica da repetição de (AAT) <sub>n</sub> entre pacientes e controles (frequência mais baixa do alelo 4 - [AAT] <sub>10</sub> ).	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sustenta a hipótese de que o polimorfismo com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> está associado à patofisiologia de ESQ.</li> <li>O alelo 4 poderia ser o variante de proteção para a ESQ do gene CNR1.</li> </ul>
Zammit <i>et al.</i> <sup>16</sup>	Avaliar o envolvimento dos genes de CNR1 e CHRNA7 na patogênese de ESQ.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>750 pacientes com ESQ</li> <li>688 controles</li> <li>População britânica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A (rs1049353)</li> </ul>	Não houve diferença quanto à distribuição genotípica de 1359 G/A entre pacientes e controles.	Não sustenta a hipótese de que o polimorfismo 1359 G/A está associado à patofisiologia de ESQ.
Seifert <i>et al.</i> <sup>17</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>104 pacientes com ESQ</li> <li>140 controles</li> <li>População alemã</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A (rs1049353)</li> <li>Repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> <li>rs6454674</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A frequência alélica de (AAT)<sub>10</sub> foi menor em pacientes portadores de ESQ do que em controles, mas não foi estatisticamente significativa.</li> <li>Não houve diferença quanto à frequência alélica dos polimorfismos 1359 G/A (rs1049353) e rs6454674 entre pacientes e controles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Não sustenta a hipótese de que os polimorfismos 1359 G/A (rs1049353) e rs6454674 estão associados à patofisiologia de ESQ.</li> <li>Houve tendência de uma frequência menor do alelo (AAT)<sub>10</sub> na ESQ, talvez não confirmada devido ao tamanho da amostra, que foi pequena.</li> </ul>
Chavarría-Siles <i>et al.</i> <sup>22</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia.	Análises de associação genética baseada em família.	<ul style="list-style-type: none"> <li>66 pacientes com ESQ hebefrênica</li> <li>244 pacientes portadores de ESQ (fenótipo amplo)</li> <li>população costarriquenha</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Houve associação entre a repetição tripla do polimorfismo de (AAT)<sub>n</sub> em pacientes portadores de ESQ hebefrênicos (frequência menor do alelo 4 - [AAT]<sub>10</sub>).</li> <li>Não houve associação entre o polimorfismo e pacientes portadores de ESQ (fenótipo amplo).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sustenta a hipótese de que o polimorfismo com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> está associado à patofisiologia de ESQ hebefrênica.</li> <li>Sustenta a hipótese de que mecanismos genéticos e patofisiológicos distintos podem estar relacionados aos diferentes subtipos de ESQ.</li> </ul>
Hamdani <i>et al.</i> <sup>18</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 na patogênese da esquizofrenia e resposta de AP.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>133 pacientes portadores de ESQ em AP atípicos (responsivos: 74; não responsivos: 59)</li> <li>141 controles</li> <li>População francesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1359 G/A (rs1049353)</li> <li>rs806368</li> <li>rs806379</li> <li>rs806380</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Não houve diferença quanto às frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo 1359 G/A (rs1049353) entre pacientes e controles.</li> <li>A frequência alélica do alelo G do polimorfismo 1359 G/A (rs1049353) foi mais alta nos pacientes esquizofrênicos não responsivos.</li> </ul>	O polimorfismo 1359 G/A (rs1049353) não estaria relacionado à vulnerabilidade da ESQ, mas à resposta do antipsicótico atípico.

					<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Não houve diferença quanto às frequências alélica e genotípica dos polimorfismos rs806368, rs806379 e rs806380 entre responsivos e não responsivos.</li> </ul>	
Tiwari <i>et al.</i> <sup>23</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR1 no ganho de peso induzido por AP em ESQ.	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 183 pacientes portadores de ESQ ou transtornos esquizoafetivos em tratamento antipsicótico</li> <li>▪ População de ascendência europeia (n=117) e africana (n=55)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ rs806368</li> <li>▪ rs12720071</li> <li>▪ rs1049353</li> <li>▪ rs806369</li> <li>▪ rs806370</li> <li>▪ rs806374</li> <li>▪ rs806375</li> <li>▪ rs806377</li> <li>▪ rs806378</li> <li>▪ rs2023239</li> <li>▪ rs806380</li> <li>▪ rs806381</li> <li>▪ rs7752758</li> <li>▪ rs12528858</li> <li>▪ rs12205430</li> <li>▪ rs6914429</li> <li>▪ rs2180619</li> <li>▪ rs754387</li> <li>▪ rs9450902</li> <li>▪ rs10485170</li> </ul>	A frequência alélica do polimorfismo rs806378 (alelo T) foi mais alta em pacientes esquizofrênicos europeus que ganham mais peso com APs atípicos (clozapina ou olanzapina).	Sustenta a hipótese de que o polimorfismo rs806378 está relacionado ao ganho de peso induzido por AP atípico.
Ishiguro <i>et al.</i> <sup>25</sup>	Avaliar o envolvimento do gene CNR2 na patogênese da esquizofrenia	Estudo de associação genética.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 1.920 pacientes portadores de ESQ</li> <li>▪ 1.920 controles</li> <li>▪ População japonesa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ rs9424339</li> <li>▪ rs2502959</li> <li>▪ rs2501432 (R63Q)</li> <li>▪ rs2229579 (H316T)</li> <li>▪ rs12744386</li> </ul>	As frequências alélicas dos polimorfismos rs12744386 e rs2501432 (R63Q) foram mais elevadas em pacientes portadores de ESQ.	Sustenta a hipótese de que os polimorfismos rs12744386 e rs2501432 (R63Q) do gene CNR2 estão associados à patofisiologia da ESQ.
Ho <i>et al.</i> <sup>24</sup>	Avaliar interações entre os polimorfismos do gene CNR1, o uso da <i>cannabis</i> , o volume cerebral e a função cognitiva em ESQ.	Estudo transversal com neuroimagem (IRM) e bateria cognitiva.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 52 pacientes portadores de ESQ ou transtorno esquizoafetivo usuários/ dependentes da <i>cannabis</i>.</li> <li>▪ 183 pacientes com ESQ ou transtorno esquizoafetivo não usuários/ dependentes da <i>cannabis</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ rs806365</li> <li>▪ rs806366</li> <li>▪ rs806368</li> <li>▪ rs806374</li> <li>▪ rs806375</li> <li>▪ rs806376</li> <li>▪ rs806380</li> <li>▪ rs7766029</li> <li>▪ rs12720071</li> <li>▪ rs1049353 (1359 G/A)</li> <li>▪ rs6454672</li> <li>▪ rs9450898</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Os usuários de <i>cannabis</i> apresentaram volumes frontotemporais da SB menores do que os não usuários.</li> <li>▪ Não houve diferença quanto às frequências alélicas entre usuários e não usuários.</li> <li>▪ Portadores de rs12720071 (alelo G) apresentaram volumes frontotemporais da SB menores do que os portadores do alelo A. Os usuários da <i>cannabis</i> apresentaram volumes ainda menores da SB parietal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sugere que o uso da <i>cannabis</i> associado aos genótipos específicos de CNR1 pode contribuir para as alterações de SB e déficits cognitivos em um subgrupo de pacientes portadores de ESQ.</li> <li>▪ Sustenta a hipótese de que as influências genéticas e ambientais agem em conjunto para determinar a expressão fenotípica na ESQ.</li> </ul>

- Portadores de rs7766029 (alelo C) apresentaram o lobo parietotemporal menor do que os portadores do alelo T e rs9450898 (alelo C) apresentaram volumes menores da SB frontotemporal do que os portadores do alelo T.
- Portadores rs12720071 alelo G apresentaram os piores resultados nos testes de resolução de problemas e de velocidade de processamento/atenção. Os usuários da *cannabis* tiveram resultados ainda piores nos testes de resolução de problemas.

antipsicóticas. Além disso, as diferenças entre outros três polimorfismos (rs806368, rs806379 e rs806380) foram analisadas entre pacientes refratários ou responsivos ao tratamento antipsicótico, mas nenhuma associação foi encontrada. Finalmente, Morita *et al.*<sup>19</sup> investigaram uma possível relação entre o polimorfismo Pro129Thr (rs324420) do gene FAAH e a esquizofrenia. Nenhuma diferença foi encontrada em um grupo de 260 pacientes com esquizofrenia (127 paranoides, 127 hebefrênicos e seis não classificados), em comparação a 63 controles na população japonesa, independentemente do subtipo de transtorno.

Contrastando esses resultados negativos, outros estudos indicam uma associação entre as variações no gene CNR1 e a esquizofrenia. Ujike *et al.*<sup>20</sup> compararam 242 pacientes (110 paranoides e 128 hebefrênicos) com 296 controles saudáveis em uma população japonesa em relação ao polimorfismo (AL136096) com repetição tripla (AAT)<sub>n</sub> e encontraram uma diferença relativa à frequência alélica entre hebefrênicos *versus* controles (frequência maior para o alelo [AAT]<sub>9</sub> e menor para o alelo [AAT]<sub>17</sub>). No mesmo estudo, outro grupo com 116 pacientes e 137 controles foi avaliado quanto a diferenças no polimorfismo G/A (rs1049353), mas nenhuma foi encontrada. Alguns desses resultados foram reproduzidos por Martínez-Gras *et al.*<sup>21</sup>, que encontraram uma frequência baixa do alelo (AAT)<sub>10</sub> (alelo 4) em 113 pacientes com esquizofrenia em comparação a 111 controles em uma população espanhola. Chavarría-Siles *et al.*<sup>22</sup> compararam 244 pacientes com esquizofrenia, sem a classificação de subtipo, a 66 pacientes do subtipo hebefrênico e não encontraram associação entre o polimorfismo (AL136096) com repetição tripla (AAT)<sub>n</sub> em pacientes com esquizofrenia em geral, mas, como Ujike *et al.*,<sup>20</sup> observaram um efeito para pacientes do subtipo hebefrênico (frequência menor do alelo [AAT]<sub>10</sub>). Esses dados refletem a heterogeneidade fisiopatológica da esquizofrenia e sugerem que variações no gene CNR1 podem contribuir para a patogênese dos subtipos específicos desse transtorno.

Tiwari *et al.*<sup>23</sup> avaliaram 20 polimorfismos do gene CNR1 em 183 pacientes portadores de esquizofrenia ou transtorno esquizoafetivo em tratamento antipsicótico e encontraram frequência alélica (alelo T) mais alta do polimorfismo rs806378 nos pacientes que ganharam mais peso enquanto usavam clozapina ou olanzapina, o que sugere que essa variação genética está relacionada à suscetibilidade do ganho de peso induzido por antipsicóticos.

Em um estudo interessante, Ho *et al.*<sup>24</sup> avaliaram interações entre os polimorfismos de CNR1, o uso de *cannabis*, o volume cerebral e a função cognitiva. Os autores compararam 52 pacientes portadores de esquizofrenia ou de transtorno esquizoafetivo e usuários/dependentes da *cannabis* e 183 pacientes não usuários e observaram menores volumes da substância branca frontotemporal (SB) naqueles que fumavam *cannabis*. Além disso, pacientes com o polimorfismo rs12720071 (alelo G) tinham volumes menores de SB do que aqueles com o alelo A. Aqueles com o alelo G usuários da *cannabis* tinham volumes ainda menores de SB. Pacientes com rs7766029 (alelo C) e rs9450898 (alelo C) apresentaram volumes menores de SB do que aqueles com o alelo T. Na bateria cognitiva, pacientes com rs12720071 (alelo G) apresentaram resultados piores nos testes de resolução de problemas e de velocidade de processamento/atenção. Os resultados dos testes de resolução de problemas foram ainda piores nos portadores do alelo G que fumaram *cannabis*. Aqueles resultados sugerem que o uso da *cannabis* em associação com genótipos específicos de CNR1 pode contribuir para as alterações na SB e para o déficit cognitivo em um subgrupo de pacientes esquizofrênicos, o que favorece a hipótese de que a genética e os fatores ambientais agem em conjunto para determinar a expressão fenotípica na esquizofrenia.

Apenas um estudo focou nas variações do gene CNR2 (que decodifica CB2-R) na patogênese da esquizofrenia. Ishiguro *et al.*<sup>25</sup> avaliaram as diferenças quanto às frequências alélicas de cinco polimorfismos de CNR2 (rs9424339, rs2502959,

rs2501432 [R63Q], rs2229579 [H316T] e rs12744386), comparando 1.920 pacientes portadores de esquizofrenia a 1.920 controles em uma população japonesa. Os autores encontraram uma associação entre os polimorfismos rs2501432 (R63Q) e rs12744386 e o transtorno. Esse resultado corrobora a hipótese de que as variações no gene CNR2 podem ter participação na fisiopatologia da esquizofrenia.

De forma geral, a maioria dos estudos se refere aos polimorfismos com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096) e 1359 G/A (rs1049353) do gene CNR1. Dentre os estudos que avaliam o polimorfismo com repetição tripla de (AAT)<sub>n</sub> (AL136096), um encontrou uma associação com a esquizofrenia,<sup>21</sup> dois encontraram associações com esquizofrenia do subtipo hebefrênica<sup>20,22</sup> e dois não encontraram associações entre o polimorfismo e o transtorno.<sup>14,17</sup> Dentre os estudos que avaliaram o polimorfismo 1359 G/A (rs1049353),<sup>15-18,20</sup> nenhum identificou qualquer associação. O único estudo que avaliou variações do gene CNR2<sup>25</sup> observou uma relação entre dois polimorfismos e a esquizofrenia. Os polimorfismos Pro129Thr (rs324420) do gene FAAH, e rs6454674 do gene CNR1, bem como rs9424339, rs2502959 e rs2229579 (H316T) do gene CNR2, não pareceram ter qualquer relação com o transtorno.

### Alterações de receptores canabinoides no cérebro

Outra estratégia empregada por alguns autores para investigar o papel do SECB na fisiopatologia da esquizofrenia foca na determinação dos níveis de CB1-R em determinadas regiões do cérebro possivelmente relacionadas a esse transtorno. Isso foi feito nos estudos *post-mortem* e *in vivo*. Os estudos *post-mortem* avaliaram a densidade de CB1-R por meio de três métodos principais: ensaios com ligação de radioligantes, imuno-histoquímica ou reação em cadeia da polimerase (PCR), enquanto estudos *in vivo* empregaram técnicas de neuroimagem. Esses estudos estão resumidos na Tabela 2.

O primeiro estudo *post-mortem* com um radioligante foi conduzido por Dean *et al.*,<sup>26</sup> que investigou diferenças quanto aos níveis de ligação de [<sup>3</sup>H] CP-55940 (um antagonista de CB1-R) na área 9 do córtex pré-frontal dorsolateral (dlPFC), caudado-putâmen e hipocampo de 14 pacientes com esquizofrenia e 14 controles. Os autores detectaram um aumento da densidade do CB1-R no dlPFC de pacientes, um resultado não relacionado ao consumo de *cannabis*. Não houve diferença em outras regiões do cérebro. Além disso, Dalton *et al.*<sup>27</sup> avaliaram a densidade de CB1-R

Tabela 2 Alterações de receptores endocanabinoides no cérebro

Autores	Objetivo	Tipo	Sujeitos	Áreas cerebrais investigadas	Resultados	Conclusões
Dean <i>et al.</i> <sup>26</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (por meio do nível da ligação do radioligante [ <sup>3</sup> H] CP-55940, agonista de CB1) nas áreas do cérebro envolvidas na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando radioligante e autorradiografia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 14 pacientes portadores de ESQ</li> <li>• 14 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dlPFC, área 9</li> <li>• CP</li> <li>• Lobo temporal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento da densidade de CB1-R no dlPFC de sujeitos portadores de ESQ independentemente da recente ingestão de <i>cannabis</i>.</li> <li>• Nenhuma diferença na densidade do CB1-R no CP e no hipocampo na comparação de pacientes portadores de ESQ e controles.</li> <li>• Aumento na densidade de CB1-R no CP de sujeitos que haviam ingerido recentemente a <i>cannabis</i> (independentemente do diagnóstico).</li> </ul>	Favorece a hipótese de que as mudanças no SECB no dlPFC estão associadas à patologia de ESQ.
Zavitsanou <i>et al.</i> <sup>28</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (por meio do nível da ligação do radioligante [ <sup>3</sup> H] SR141716A, antagonista do CB1) nas áreas do cérebro envolvidas na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando radioligante e autorradiografia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 pacientes portadores de ESQ</li> <li>• 10 controles</li> </ul>	•ACC	Aumento da densidade de CB1-R no ACC de sujeitos portadores de ESQ (independentemente da recente ingestão da <i>cannabis</i> ).	Favorece a hipótese de que mudanças no SECB no ACC estão associadas à patologia da ESQ (principalmente os sintomas cognitivos e negativos).
Newell <i>et al.</i> <sup>29</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (por meio do nível da ligação do radioligante [ <sup>3</sup> H] CP-55940, agonista de CB1) nas áreas do cérebro envolvidas na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando radioligante e autorradiografia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• oito pacientes portadores de ESQ</li> <li>• oito controles</li> </ul>	• PCC	Aumento da densidade do CB1-R no PCC (camadas superficiais) de sujeitos portadores de ESQ.	Favorece a hipótese de que mudanças no SECB no PCC estão associadas à patologia da ESQ.





Deng <i>et al.</i> <sup>30</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (por meio do nível da ligação do radioligante [ <sup>3</sup> H] SR141716A, antagonista do CB1) nas áreas do cérebro envolvidas na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando radioligante e autorradiografia.	<ul style="list-style-type: none"> <li>oito pacientes portadores de ESQ</li> <li>oito controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>STG</li> </ul>	Não há diferença quanto à densidade do CB1-R no STG, na comparação de pacientes com controles.	Não favorece a hipótese de que CB1-R no STG está associado à patologia de ESQ.
Koethe <i>et al.</i> <sup>31</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R na área do cérebro envolvida em ESQ, TB e TDM.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando imuno-histoquímica.	<ul style="list-style-type: none"> <li>15 pacientes portadores de ESQ</li> <li>15 pacientes com TB</li> <li>15 pacientes com TDM</li> <li>15 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ACC</li> </ul>	Não há diferença quanto à densidade do CB1-R no ACC, na comparação de pacientes portadores de ESQ com controles.	Não favorece a hipótese de que CB1-R no ACC está associado à patologia de ESQ.
Eggen <i>et al.</i> <sup>32</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (expressão do mRNA e da proteína) na área do cérebro envolvida na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando imuno-histoquímica e hibridação <i>in situ</i> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>23 pacientes portadores de ESQ</li> <li>23 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>dLPFC, área 9</li> </ul>	Redução da expressão do mRNA e da proteína do CB1-R no dLPFC (área 9), na comparação de pacientes portadores de ESQ com controles.	Favorece a hipótese de que mudanças no dLPFC (área 9) estão associadas à patologia da ESQ.
Urígüen <i>et al.</i> <sup>33</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R, dos receptores D2 da dopamina e A <sub>2A</sub> da adenosina (expressão do mRNA e da proteína) na área do cérebro envolvida na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando imunoblot e PCR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>31 pacientes jovens esquizofrênicos que cometeram suicídio (11 foram tratados com AP atípicos)</li> <li>13 vítimas de suicídio não ESQ</li> <li>33 controles que não cometeram suicídio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>dLPFC, área 9</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Redução da expressão do mRNA e da proteína do CB1-R no dLPFC (área 9), na comparação de pacientes portadores de ESQ com controles (independentemente do suicídio).</li> <li>Não há diferença quanto à expressão do mRNA do CB1-R no dLPFC (área 9), na comparação de pacientes portadores de ESQ com controles.</li> </ul>	Favorece a hipótese de que mudanças no dLPFC (área 9) estão associadas à patologia da ESQ e de que o uso de antipsicóticos está relacionado à sub-regulação descendente do CB1-R nessa área.
Wong <i>et al.</i> <sup>35</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R na área do cérebro envolvida na ESQ.	Análise observacional, transversal, neuroimagem <i>in vivo</i> (PET scan) com radioligante.	<ul style="list-style-type: none"> <li>10 pacientes com ESQ em APs</li> <li>10 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>córtices frontal, temporal, parietal, occipital e cíngulo, giro fusiforme, hipocampo, parahipocampo, ínsula, putâmem, caudado, globo pálido, tálamo, cerebelo e ponte.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aumento da densidade do CB1-R na ponte de sujeitos com esquizofrenia.</li> <li>Correlação positiva entre a expressão de CB1-R e os sintomas positivos. Correlação negativa entre a expressão do CB1-R e os sintomas negativos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Favorece a hipótese de que mudanças no SECB estão associadas à patologia da ESQ.</li> </ul>
Eggen <i>et al.</i> <sup>34</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R na área do cérebro envolvida na ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando imunocitoquímica.	<p>Coorte nº 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>12 pacientes com ESQ</li> <li>12 controles</li> </ul> <p>Coorte nº 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>14 pacientes com ESQ</li> <li>14 pacientes com TDM</li> <li>14 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>dLPFC, área 46</li> </ul>	<p>Coorte nº 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Redução da densidade do CB1-R no dLPFC (área 46) de sujeitos com ESQ.</li> </ul> <p>Coorte nº 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Redução da densidade do CB1-R no dLPFC (área 46), na comparação de pacientes com ESQ, pacientes com TDM e controles.</li> <li>Não há diferença quanto à densidade do CB1-R no dLPFC, na comparação de pacientes portadores de TDM com controles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Favorece a hipótese de que mudanças no SECB (área 46) estão associadas à patologia da ESQ</li> <li>As alterações do CB1-R estão presentes em algumas regiões do dLPFC e seriam específicas (não presentes no TDM) da ESQ.</li> </ul>

▼						
Ceccarini <i>et al.</i> <sup>36</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R na área do cérebro envolvida na ESQ.	Análise observacional, transversal, neuroimagem <i>in vivo</i> (PET <i>scan</i> ) com radioligante.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 49 pacientes portadores de ESQ com AP</li> <li>• nove pacientes portadores de ESQ sem AP</li> <li>• 12 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NA</li> <li>• Ínsula</li> <li>• ACC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento da densidade do CB1-R no NA de sujeitos com esquizofrenia.</li> <li>• Aumento da densidade do CB1-R na ínsula e no ACC de sujeitos com esquizofrenia em tratamento com AP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Favorece a hipótese de que mudanças no SECB no NA, na ínsula e no ACC estão associadas à patologia da ESQ.</li> </ul>
Dalton <i>et al.</i> <sup>27</sup>	Avaliar a densidade do CB1-R (ligação do radioligante [ <sup>3</sup> H] CP-55940 e expressão do mRNA) na área do cérebro envolvendo a ESQ.	Análise observacional, transversal, <i>post-mortem</i> do tecido cerebral usando radioligante, autorradiografia e PCR quantitativa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 16 pacientes com ESQ paranoide</li> <li>• 21 pacientes com ESQ não paranoide</li> <li>• 37 controles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dlPFC, área 46</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento da densidade do CB1-R no dlPFC (área 46) de sujeitos com esquizofrenia paranoide.</li> <li>• Não há diferença quanto à expressão do mRNA do CB1-R, na comparação entre pacientes portadores de esquizofrenia e controles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Favorece a hipótese de que mudanças no SECB no dlPFC (área 46) estão associadas à patologia da ESQ paranoide.</li> </ul>

em outra área do dlPFC (área 46) com o mesmo ligante e encontraram um aumento na densidade desse receptor em pacientes com esquizofrenia paranoide ( $n = 16$ ) quando comparados aos controles ( $n = 37$ ). Zavitsanou *et al.*<sup>28</sup> focaram no córtex cingulado anterior (ACC) com o uso do antagonista de CB1-R [<sup>3</sup>H]-SR141716A em 10 pacientes com esquizofrenia *versus* 10 controles, descrevendo um aumento da densidade de CB1-R. Newell *et al.*<sup>29</sup> também encontraram um aumento da expressão do CB1-R no córtex cingulado posterior (PCC), conforme revelado pelo agonista de CB1-R [<sup>3</sup>H]-CP-55940, em oito pacientes e oito controles. Finalmente, Deng *et al.*<sup>30</sup> avaliaram as diferenças na ligação de [<sup>3</sup>H]-SR141716A no giro temporal superior (STG), uma região cerebral envolvida nas alucinações auditivas. No entanto, não encontraram nenhuma diferença entre pacientes ( $n = 8$ ) e controles ( $n = 8$ ).

Quatro estudos *post-mortem* empregaram técnicas diferentes para medir a densidade de CB1-R. Por meio da imuno-histoquímica, Koethe *et al.*<sup>31</sup> não encontraram diferenças no ACC de pacientes com esquizofrenia em relação aos controles ( $n = 15$  por grupo). No entanto, Eggan *et al.*<sup>32</sup> observaram uma redução de CB1-R no dlPFC (área 9), conforme revelado pela expressão da proteína, e do RNAm de 23 pacientes e do mesmo número de controles. Da mesma forma, Urigüen *et al.*<sup>33</sup> encontraram a expressão reduzida da proteína CB1-R (mas não do RNAm) nessa mesma região em uma amostra de 31 jovens pacientes, se comparados a 33 controles. Finalmente, Eggan *et al.*<sup>34</sup> também avaliaram a densidade de CB1-R no dlPFC, área 46, em duas coortes de pacientes e controles. Na primeira coorte, que contém o mesmo grupo do estudo anterior, encontrou-se redução da densidade de CB1-R nessa região do cérebro. Na segunda, contendo 14 pacientes com esquizofrenia, 14 com depressão maior e 14 controles, também houve redução da densidade do CB1-R na esquizofrenia, se comparada aos controles e ao grupo que sofre de depressão maior.

Com relação aos estudos *in vivo*, dois avaliaram os níveis do CB1-R no cérebro por meio dos métodos de neuroimagem. Wong *et al.*<sup>35</sup> empregaram o PET *scan* para avaliar a

expressão do receptor em determinadas áreas do cérebro (córtices frontal, temporal, parietal, occipital e cingulado; giro fusiforme, hipocampo, ínsula, putâmen, núcleo caudado, globo pálido, tálamo, cerebelo e ponte) de 10 pacientes e um número igual de controles. Foi encontrado um aumento significativo da expressão do receptor apenas na ponte. Também houve tendência nesse sentido na maioria das regiões (exceto para o giro fusiforme e o cerebelo). Além disso, os autores verificaram que a expressão do CB1-R se correlaciona diretamente com os sintomas positivos e de forma inversa com os negativos. Ceccarini *et al.*<sup>36</sup> também empregaram o PET *scan* para avaliar os níveis do receptor em três áreas do cérebro (núcleo *accumbens*, ínsula e ACC) de 49 pacientes com esquizofrenia tratados com antipsicóticos, nove pacientes sem tratamento e 12 controles. Os autores observaram um aumento na densidade do CB1-R no núcleo *accumbens*, independentemente do *status* do tratamento, e um aumento na ínsula e no ACC em pacientes tratados em relação aos controles.

Em resumo, os estudos que medem a expressão do CB1-R na esquizofrenia geram resultados contraditórios. Cinco deles avaliaram o dlPFC (três deles com foco na área 9 e dois na área 46). Na área 9, um estudo encontrou um aumento<sup>26</sup> e dois um decréscimo<sup>32,33</sup> na esquizofrenia. Com relação à área 46, um estudo verificou um aumento<sup>27</sup> e outro um decréscimo.<sup>34</sup> No ACC, dois estudos observaram níveis mais altos do CB1-R,<sup>28,36</sup> enquanto outro não encontrou diferenças entre pacientes e controles.<sup>31</sup> Por outro lado, houve um aumento de PCC<sup>29</sup>, da ponte<sup>35</sup>, do núcleo *accumbens* e da ínsula.<sup>36</sup> Nenhuma diferença foi observada no caudado-putâmen, no hipocampo<sup>26</sup> e no STG<sup>30</sup>.

### Alterações nos níveis endocanabinoides no líquido e no sangue

Além de mudanças no SECB em regiões cerebrais, estudos descreveram níveis alterados de eCB no líquido e no sangue coletado de pacientes. Os oito estudos recuperados em nossas buscas estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 Alterações nos níveis de endocanabinoides no líquido e no sangue na esquizofrenia

Autores	Objetivos	Tipo	Sujeitos	Sangue x líquido	eCBs	Intervenção	Resultados antes da intervenção	Resultados	Conclusões
Leweke <i>et al.</i> <sup>37</sup>	Avaliar a hipótese de que a ESQ está relacionada às alterações do SECB no líquido.	Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia gasosa/espectrometria de massas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>10 pacientes portadores de ESQ</li> <li>11 controles</li> </ul>	líquor	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>PEA</li> </ul>	Não	N.A.	Níveis mais altos de AEA e PEA na ESQ.	Sustenta a hipótese de que as alterações do líquido no SECB estão envolvidas na fisiologia da ESQ.
Yao <i>et al.</i> <sup>41</sup>	Avaliar a hipótese de que a ESQ está relacionada às alterações no sangue.	Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia gasosa/espectrometria de massas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>17 pacientes com ESQ FENN</li> <li>20 pacientes crônicos com esquizofrenia estável (com ou sem AP)</li> <li>20 controles</li> </ul>	Sangue (plasma)	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>2-AG</li> </ul>	Não	N.A.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Níveis mais altos de AEA em pacientes com ESQ FENN do que em controles.</li> <li>Níveis mais baixos de 2-AG em pacientes com ESQ FENN do que em pacientes crônicos com ESQ estável (sem AP).</li> <li>Níveis de 2-AG não diferiram entre ESQ FENN e controles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sustenta a hipótese de que as alterações do SECB no sangue estão envolvidas na fisiologia da ESQ.</li> <li>Níveis plasmáticos de AEA na ESQ parecem ser independentes da mudança do estado, enquanto o alto nível plasmático de 2-AG pode estar relacionado à progressão da doença.</li> </ul>
De Marchi <i>et al.</i> <sup>43</sup>	Avaliar a hipótese de que a ESQ está relacionada às alterações de SECB no sangue.	Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas e mRNA por meio de PCR.	<ul style="list-style-type: none"> <li>12 pacientes agudos sem tratamento da ESQ</li> <li>Subgrupo de cinco pacientes portadores de ESQ remittidos (pós-tratamento)</li> <li>20 controles</li> </ul>	Sangue	<ul style="list-style-type: none"> <li>AEA (em todos os grupos)</li> <li>FAAH, CB1-R e CB2-R mRNA (pacientes na fase aguda e remittidos)</li> </ul>	Tratamento antipsicótico (olanzapina)	Níveis altos de AEA em pacientes agudos de ESQ.	<ul style="list-style-type: none"> <li>No subgrupo dos pacientes esquizofrênicos remittidos (pós-tratamento):</li> <li>Diminuição dos níveis de AEA</li> <li>Diminuição de FAAH e CB2-R mRNA</li> <li>Não houve diferença quanto aos níveis de CB1-R mRNA.</li> </ul>	Sustenta a hipótese de que as alterações de SECB no sangue estão envolvidas na fisiologia da ESQ.

<p>Giuffrida <i>et al.</i><sup>38</sup></p> <p>Avaliar a hipótese de que os eCBs são alterados na ESQ, mas não em outros transtornos psiquiátricos</p>	<p>Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas.</p>	<p>47 pacientes com ESQ FENN paranoide</p> <p>71 pacientes com ESQ paranoide nos APs (típicos: 36; atípicos: 35)</p> <p>22 pacientes com transtornos afetivos</p> <p>13 pacientes com demência</p> <p>84 controles</p>	<p>Líquor e sangue (soro)</p>	<p>• AEA</p> <p>• PEA</p> <p>• OEA</p>	<p>Não</p>	<p>N.A.</p>	<p>• Níveis mais altos de AEA no líquor e níveis mais baixos de PEA no líquor em pacientes com ESQ FENN do que em controles.</p> <p>• Níveis mais altos de AEA e PEA do líquor em pacientes com ESQ em tratamento antipsicótico agudo do que em controles.</p> <p>• Os níveis de AEA no líquor não diferiram entre os pacientes ESQ em AP atípicos, pacientes com transtorno afetivo, pacientes com demência e controles.</p> <p>• Os níveis de OEA no líquor não diferiram entre pacientes com ESQ FENN e controles.</p> <p>• Níveis de AEA não diferiram entre todos os grupos de pacientes e controles.</p> <p>• Correlação negativa entre os níveis de AEA no líquor e a PANSS em pacientes com ESQ FENN.</p>	<p>• Sustenta a hipótese de que as alterações do líquor no SECB estão envolvidas na patofisiologia da ESQ.</p> <p>• Níveis maiores da AEA principal seriam uma resposta moduladora para o aumento da dopamina na psicose (<i>feedback</i> inibitório).</p>
<p>Leweke <i>et al.</i><sup>39</sup></p> <p>Avaliar a hipótese de que a frequência do uso da <i>cannabis</i> altera os níveis AEA no líquor e sangue, na ESQ.</p>	<p>Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas.</p>	<p>44 pacientes com ESQ FENN (dois subgrupos: frequências alta e baixa do uso da <i>cannabis</i>)</p>	<p>Líquor e sangue (soro)</p>	<p>• AEA</p> <p>• PEA</p> <p>• OEA</p>	<p>Não</p>	<p>N.A.</p>	<p>• Níveis mais altos de AEA no líquor em pacientes que apresentam baixa frequência de uso da <i>cannabis</i> do que em pacientes com alta frequência de uso da <i>cannabis</i> e controles.</p>	<p>• Sustenta a hipótese de que as alterações do líquor no SECB estão envolvidas na patofisiologia da ESQ.</p>

<p>81 controles (dois subgrupos: alta e baixa frequência do uso da <i>cannabis</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Níveis de AEA, PEA e OEA no sangue não foram diferentes entre pacientes e controles.</li> <li>Correlação negativa entre os níveis de AEA no líquido e a PANSS em pacientes com ESQ FENN e baixa frequência do uso da <i>cannabis</i></li> </ul> <p>O uso intensivo da <i>cannabis</i> em indivíduos com um SECB hiperativo sub-regula de forma descendente a sinalização central do eCB.</p>	<p>81 controles (dois subgrupos: alta e baixa frequência do uso da <i>cannabis</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Níveis de AEA, PEA e OEA no sangue não foram diferentes entre pacientes e controles.</li> <li>Correlação negativa entre os níveis de AEA no líquido e a PANSS em pacientes com ESQ FENN e baixa frequência do uso da <i>cannabis</i></li> </ul> <p>O uso intensivo da <i>cannabis</i> em indivíduos com um SECB hiperativo sub-regula de forma descendente a sinalização central do eCB.</p>
<p>Potvin <i>et al.</i><sup>44</sup></p> <p>Avaliar a hipótese de que a quetiapina reduz o uso de drogas na ESQ por meio da modulação do SECB.</p> <p>Estudo de intervenção.</p> <p>Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas.</p>	<p>Sangue (plasma)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>2-AG</li> <li>PEA</li> <li>OEA</li> </ul> <p>Tratamento antipsicótico (quetiapina)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Níveis elevados de AEA, PEA e OEA na ESQ.</li> <li>Níveis de 2-AG não foram diferentes entre pacientes com ESQ e controles.</li> </ul> <p>Níveis de AEA, PEA e OEA permaneceram elevados na ESQ.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Níveis de AG permaneceram diferentes entre pacientes com ESQ e controles.</li> </ul> <p>Pacientes obtiveram os escores maiores para a severidade do uso de substância e sintomas positivos, negativos e depressivos.</p> <p>Os resultados não sustentam a hipótese de que a quetiapina reduz o uso de drogas na ESQ por meio da modulação do SECB.</p>
<p>Koethe <i>et al.</i><sup>40</sup></p> <p>Avaliar a hipótese de que o aumento dos níveis de AEA no líquido está presente nas fases iniciais da ESQ.</p> <p>Quantificação dos eCBs por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas.</p>	<p>Líquor e sangue (soro)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>AEA</li> <li>OEA</li> </ul> <p>Não</p> <p>N.A.</p> <p>Níveis mais altos de AEA no líquido em pacientes com estados prodrômicos iniciais de psicose do que em controles.</p> <p>Não houve diferença quanto aos níveis de AEA no sangue entre pacientes e controles.</p> <p>Os resultados sustentam a hipótese de que a sinalização central de AEA deveria proteger contra o desenvolvimento da psicose.</p>

<p>• Não houve diferença quanto aos níveis de OEA no sangue entre pacientes e controles.</p> <p>• Correlação negativa entre níveis de AEA no líquor e a PANSS (síndrome cognitiva).</p>	<p>• Níveis mais altos de pFAA em pacientes com ESQ FENN paranoide do que em controles.</p> <p>• Normalização dos níveis de pFAA em pacientes com ESQ em tratamento com AP típicos.</p> <p>• Níveis de pFAA permaneceram elevados em pacientes em tratamento com AP atípicos.</p> <p>• Níveis mais altos de pFAA em pacientes com transtorno afetivo do que em controles.</p>	<p>• Não houve diferença quanto aos níveis de OEA no sangue entre pacientes e controles.</p> <p>• Correlação negativa entre níveis de AEA no líquor e a PANSS (síndrome cognitiva).</p>	<p>• Níveis mais altos de pFAA em pacientes com transtorno afetivo do que em controles.</p>
<p>Schwarz <i>et al.</i><sup>42</sup></p> <p>Avaliar as alterações nos níveis de pFAA na ESQ.</p>	<p>Quantificação de pFAA por meio da cromatografia líquida/espectrometria de massas.</p> <p>70 pacientes com ESQ FENN paranoide</p> <p>74 pacientes com ESQ paranoide aguda em tratamento com AP (típicos: 40; atípicos: 34)</p> <p>37 pacientes com transtorno afetivo</p> <p>59 controles</p>	<p>Sangue (soro)</p> <p>pFAA</p> <p>Não</p> <p>N.A.</p>	<p>Sustenta a hipótese de que as alterações do SECB estão envolvidas na patofisiologia da ESQ.</p>

ACC: córtex cingulado anterior; AEA: anandamida; AP: antipsicótico; TB: transtorno bipolar; CB1-R: receptor CB1; CB2-R: receptor CB2; CNR1: gene CB1-R; CHRNA7: receptor alfa-7 nicotínico; CNR2: gene CB2-R; CP: caudado-putâmen; Líquor: líquido cefalorraquidiano; DIPFC: córtex pré-frontal dorsolateral; eCB: endocanabinoide; FAAH: amida hidrolase de ácido graxo; FENN: primeiro episódio em virgens de tratamento; TDM: transtorno de depressão maior; IRM: imagem por ressonância magnética; mRNA: RNA mensageiro; NA: não aplicável; OEA: oleoiletanolamida; PCC: córtex cingulado posterior; PCR: reação em cadeia da polimerase; PEA: palmitoiletanolamida; PET: tomografia por emissão de pósitron; pFAA: amida de ácido graxo primária (oleoamida, linoleoamida, amida heptadecenoico, amida palmítico, amida mirístico); ESQ: esquizofrenia; STG: giro temporal superior; SB: substância branca; 2-AG: 2-ácil-glicerol.

Quatro deles mediram os níveis de eCB no líquido. Leweke *et al.*<sup>37</sup> focaram nos níveis de AEA e PEA em 10 pacientes com esquizofrenia e 11 controles e encontraram níveis elevados de AEA em pacientes. Em outro estudo, Giuffrida *et al.*<sup>38</sup> mediram AEA, PEA e OEA em quatro grupos: 47 pacientes sem tratamento com primeiro episódio de esquizofrenia paranoide; 71 sob tratamento com antipsicóticos (36 típicos e 35 atípicos); 22 com transtornos de humor e 13 com síndrome demencial. Os níveis de AEA aumentaram, enquanto o PEA diminuiu no primeiro grupo de pacientes. Ambos eCBs aumentaram em pacientes em tratamento com antipsicóticos atípicos. Em pacientes com esquizofrenia tratados com antipsicóticos típicos, com transtornos de humor e com demência, não houve mudanças nos níveis de AEA se comparados aos controles. Os níveis de OEA em pacientes sem tratamento com primeiro episódio de esquizofrenia paranoide não diferiram daqueles dos controles. É importante ressaltar que havia uma correlação negativa entre os níveis de AEA no líquido em pacientes com esquizofrenia e os sintomas (conforme revelado pela Escala das Síndromes Negativas e Positivas, PANSS), o que sugere que o AEA pode representar uma resposta moduladora contra o estado hiperdopaminérgico característico da esquizofrenia.

Para avaliar os efeitos do consumo da *cannabis* nos níveis de eCB no líquido, Leweke *et al.*<sup>39</sup> mediram os níveis de AEA, PEA e OEA em 44 pacientes com esquizofrenia e 81 controles e ambos os grupos foram divididos em subgrupos de acordo com o consumo elevado ou baixo da *cannabis*. Os autores detectaram um nível mais alto de AEA no líquido em pacientes que consumiram menos *cannabis* na comparação com aqueles que a usaram com frequência ou aos controles. Os níveis de outros eCBs não foram alterados. Houve uma correlação negativa entre os níveis de AEA no líquido e o escore de PANSS, mas apenas no grupo de pacientes que apresentaram baixo consumo de *cannabis*. Os autores sugeriram que o uso pesado da *cannabis* por sujeitos com SECB hiperativos pode provocar um *down-regulation* da sinalização de AEA no sistema nervoso central e interromper a modulação de eCB no sistema dopaminérgico.<sup>39</sup>

Koethe *et al.*<sup>40</sup> testaram a hipótese de que o aumento de eCBs na esquizofrenia poderia ser detectado nos estágios iniciais do transtorno. Dessa forma, mediram os níveis de AEA e OEA em 27 pacientes psicóticos na fase prodrômica e 81 controles. Os níveis de AEA, mas não de OEA, foram elevados nos pacientes. Novamente, houve uma correlação inversa entre o escore PANSS, mas apenas quanto às dimensões cognitivas. Pacientes em estágio prodrômico com níveis mais elevados de AEA no líquido tendem a desenvolver menos psicose, o que sustenta a hipótese de que o SECB pode exercer um papel modulador sobre o sistema dopaminérgico, que, por sua vez, protege contra os sintomas positivos. Giuffrida *et al.*,<sup>38</sup> Leweke *et al.*<sup>39</sup> e Koethe *et al.*<sup>40</sup> também mediram os níveis de AEA, PEA e OEA no sangue (soro), mas não observaram diferenças relativas aos controles. Yao *et al.*<sup>41</sup> mediram AEA e 2-AG em 17 pacientes sem tratamento com primeiro episódio de esquizofrenia, 20 pacientes estáveis e 20 controles. Eles observaram um aumento de AEA no primeiro grupo em comparação aos controles e níveis reduzidos de 2-AG em relação aos pacientes estáveis. Schwarz *et al.*<sup>42</sup> mediram a amida de ácido graxo (FAA, uma classe de lipídios que inclui os eCBs) em 70 pacientes com esquizofrenia paranoide sem

tratamento, 74 com esquizofrenia paranoide em tratamento com antipsicóticos (34 com antipsicóticos atípicos e 40 com antipsicóticos típicos), 37 com transtorno de humor e 59 controles. Os autores observaram que os níveis de FAA aumentaram em pacientes sem tratamento, portadores de esquizofrenia, em relação aos controles e que esses níveis foram normalizados em pacientes tratados com antipsicóticos típicos, mas não com os atípicos.

Finalmente, dois estudos avaliaram os níveis sanguíneos dos eCBs antes e depois do tratamento com antipsicóticos. De Marchi *et al.*<sup>43</sup> mediram AEA e mRNA para FAAH, CB1-R e CB2-R no sangue de 12 pacientes com esquizofrenia que apresentavam psicose aguda e 20 controles. Antes do tratamento, os níveis de AEA eram mais altos em pacientes, mas após o tratamento com olanzapina e melhora dos sintomas positivos em cinco pacientes, os níveis de AEA reduziram-se a níveis semelhantes aos dos controles. Também houve redução de FAAH e CB2-R mRNA, mas não do CB1-R mRNA. Potvin *et al.*<sup>44</sup> testaram a hipótese de que a quetiapina poderia ajudar a reduzir o abuso de drogas em pacientes com esquizofrenia por meio da modulação do SECB. Eles quantificaram os níveis de AEA, 2-AG, PEA e OEA em 27 pacientes com esquizofrenia dependentes de substâncias e 17 controles. Antes do tratamento, os níveis de AEA, PEA e OEA, mas não o de 2-AG, aumentaram. Após 12 semanas de tratamento com quetiapina, houve redução do abuso de drogas e melhora dos sintomas positivos, negativos e depressivos, mas não houve redução dos níveis de AEA, PEA ou OEA.

Em resumo, quatro estudos detectaram um aumento dos níveis de AEA no líquido.<sup>37-40</sup> Com relação às medidas no sangue, três também alcançaram esse resultado,<sup>41,43,44</sup> enquanto três não encontraram diferença alguma.<sup>38,39,40</sup> Um estudo<sup>41</sup> mostrou níveis reduzidos de 2-AG no sangue e outro mostrou níveis inalterados.<sup>44</sup> Os níveis de OEA no líquido não diferiram daqueles dos controles em dois estudos,<sup>38,39</sup> embora, no sangue, fossem mais altos<sup>44</sup> ou estivessem inalterados.<sup>39,40</sup> Um estudo verificou que os níveis de PEA no líquido aumentaram em pacientes que recebiam antipsicóticos atípicos e reduziram nos pacientes sem tratamento.<sup>38</sup> Outros estudos verificaram que os níveis sanguíneos estavam elevados<sup>44</sup> ou inalterados.<sup>40</sup> Em dois estudos,<sup>38,43</sup> o tratamento com antipsicóticos atípicos foi inversamente correlacionado aos níveis de AEA no sangue, mas outra pesquisa não encontrou alteração alguma.<sup>44</sup> Já o uso de AP típicos alterou AEA e FAA a níveis semelhantes aos dos controles.<sup>38,42</sup>

## Conclusão

A presente revisão sistemática descreveu a literatura que investiga mudanças no SECB em pacientes portadores de esquizofrenia. Os artigos originais revistos aqui abordaram os polimorfismos genéticos, a expressão dos receptores canabinoides em regiões específicas do cérebro e os níveis de eCB no líquido ou no sangue.

Até agora, é difícil esboçar qualquer teoria consistente sobre o papel do SECB nesse importante transtorno psiquiátrico. Levando em consideração os efeitos agudos da *Cannabis sativa* e dos canabinoides, que induzem efeitos psicotomiméticos,<sup>45</sup> e as evidências epidemiológicas que sugerem que o consumo crônico da *Cannabis* pode ser fator de predisposição à esquizofrenia,<sup>10,11,12</sup> há uma razão para associar mudanças no SECB a sintomas nesse transtorno.

De fato, foi proposta uma hipótese endocanabinoide da esquizofrenia.<sup>46</sup> No entanto, não se pode deduzir nenhuma idéia clara sobre isso a partir dos estudos revisados.

Esse tópico é relevante não só por razões teóricas. A atual terapia farmacológica da esquizofrenia está limitada ao antagonismo dos receptores de dopamina, que apresenta eficácia limitada e consideráveis efeitos colaterais.<sup>3</sup> Assim, estratégias farmacológicas alternativas podem ser alcançadas e uma possível abordagem envolve a caracterização de outros sistemas neurotransmissores afetados nesse transtorno. Tal estratégia tem sido usada, por exemplo, com o sistema glutamatérgico. Baseado na teoria de que a esquizofrenia pode estar relacionada com um baixo funcionamento glutamatérgico, tentativas de aumentar a sua neurotransmissão vem sendo feitas.<sup>6,7</sup> Quanto ao SECB, tem-se investigado se o antagonismo de CB1-R induz os efeitos antipsicóticos, como uma consequência dos efeitos psicotomiméticos de canabinoides que ativam esse receptor. No entanto, até agora, os resultados são heterogêneos.<sup>47</sup> Estudos em animais também são inconsistentes.<sup>48</sup>

Por fim, apesar de alguns estudos investigarem mudanças do SECB na esquizofrenia, ainda não está claro se o mau funcionamento desse sistema estaria relacionado de forma consistente a esse transtorno.

## Declarações

Rodrigo Ferretjans

Local de trabalho: Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Fabrcio A. Moreira

Local de trabalho: Programa de Pós-graduação em Neurociências, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Antônio L. Teixeira

Local de trabalho: Programa de Pós-graduação em Neurociências, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

João V. Salgado

Local de trabalho: Programa de Pós-graduação em Neurociências, Instituto Raul Soares - FHEMIG; Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. Os autores não possuem conflitos de interesse relativos ao tema deste artigo.

\* Modesta

\*\* Significativa

\*\*\* Significativa. Montantes fornecidos à instituição do autor ou a colega para pesquisa onde o autor tem participação, não diretamente ao autor.

## Referências

1. Freedman R. Schizophrenia. *N Engl J Med*. 2003;349(18):1738-49.
2. Van Os J, Kapur S. Schizophrenia. *Lancet*. 2009;374(9690):635-45.
3. Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(7):1081-90.
4. Carlsson ML, Carlsson A, Nilsson M. Schizophrenia: from dopamine to glutamate and back. *Curr Med Chem*. 2004;11(3):267-77.
5. Kapur S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003;160(1):13-23.
6. Kantrowitz J, Javitt DC. Glutamatergic transmission in schizophrenia: from basic research to clinical practice. *Curr Opin Psychiatry*. 2012;25(2):96-102.
7. Meltzer HY, Horiguchi M, Massey BW. The role of serotonin in the NMDA receptor antagonist models of psychosis and cognitive impairment. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;213(2-3):289-305.
8. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*. 2002;54(2):161-202.
9. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SP, Di Marzo V, Elphick MR, Greasley PJ, Hansen HS, Kunos G, Mackie K, Mechoulam R, Ross RA. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>1</sub>. *Pharmacol Rev*. 2010;62(4):588-631.
10. Cohen M, Solowij N, Carr V. *Cannabis*, cannabinoids, and schizophrenia: integration of the evidence. *Aust N Z J Psychiatry*. 2008;42(5):357-68.
11. Hall W, Solowij N. Adverse effects of *cannabis*. *Lancet*. 1998;352(9140):1611-6.
12. Murray RM, Morrison PD, Henquet C, Di Forti M. *Cannabis*, the mind and society: the harsh realities. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8(11):885-95.
13. Cao Q, Martinez M, Zhang J, Sanders AR, Badner JA, Cravchik A, Markey CJ, Beshah E, Guroff JJ, Maxwell ME, Kazuba DM, Whiten R, Goldin LR, Gershon ES, Gejman PV. Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics*. 1997;43(1):1-8.
14. Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ. Association study of a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 2000;10(3):149-51.
15. 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*. 2001;105(8):749-52.
16. Zammit S, Spurlock G, Williams H, Norton N, Williams N, O'Donovan MC, Owen MJ. Genotype effects of CHRNA7, CNR1, and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and *cannabis* use. *Br J Psychiatry*. 2007;191:402-7.
17. Seifert J, Ossege S, Emrich HM, Schneider U, Stuhmann M. No association of CNR1 gene variations with susceptibility to schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2007;426(1):29-33.
18. Hamdani N, Tabeze JP, Ramoz N, Ades J, Hamon M, Sarfati Y, Boni C, Gorwood P. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18(1):34-40.
19. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2005;376(3):182-7.
20. 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(5):515-8.
21. Martínez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero MA, Pérez-Hernández E, Ampuero I, Ramos-Atance JA, 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(7):437-41.
22. Chavarría-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, Walss-Bass C, Quezada P, Dassori A, Contreras S, Medina R, Ramírez M, Salazar R, Raventos H, Escamilla MA. Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2008;147(3):279-84.



23. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Lisker A, Singh D, Souza RP, Batra P, Zaidi SH, Chen S, Liu F, Puls I, Meltzer HY, Lieberman JA, Kennedy JL, Müller DJ. A common polymorphism in the cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene is associated with antipsychotic-induced weight gain in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(6):1315-24.
24. Ho BC, 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;128(1-3):66-75.
25. Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T, Watanabe Y, Takahashi M, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Onaivi ES, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Naka I, Ohashi J, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2010;67(10):974-82.
26. 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;103(1):9-15.
27. Dalton VS, Long LE, Weickert CS, Zavitsanou K. Paranoid schizophrenia is characterized by increased CB1 receptor binding in the dorsolateral prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(8):1620-30.
28. 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 Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004;28(2):355-60.
29. Newell KA, Deng C, Huang XF. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp Brain Res*. 2006;172(4):556-60.
30. Deng C, Han M, Huang XF. No changes in densities of cannabinoid receptors in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *Neurosci Bull*. 2007;23(6):341-7.
31. Koethe D, Llenos IC, Dulay JR, Hoyer C, Torrey EF, Leweke FM, Weis S. Expression of CB1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *J Neural Transm*. 2007;114(8):1055-63.
32. Eggan SM, Hashimoto T, Lewis DA. Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(7):772-84.
33. Urigüen L, García-Fuster MJ, Callado LF, Morentin B, La Harpe R, Casadó V, Lluís C, Franco R, García-Sevilla JA, Meana JJ. 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;206(2):313-24.
34. 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;35(10):2060-71.
35. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, Raymont V, Brasic J, Guevara M, Ye W, Dannals RF, Ravert HT, Nandi A, Rahmim A, Ming JE, Grachev I, Roy C, Cascella N. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [<sup>11</sup>C]OMAR. *Neuroimage*. 2010;52(4):1505-13.
36. Ceccarini J, De Hert M, van Winkel R, Koethe D, Bormans G, Leweke M, Peuskens J, Van Laere K. In vivo PET imaging of cerebral type 1 cannabinoid receptor availability in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*. 2010;117(2):170.
37. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*. 1999;10(8):1665-9.
38. Giuffrida A, Leweke FM, Gerth CW, Schreiber D, Koethe D, Faulhaber J, Klosterkötter J, Piomelli D. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(11):2108-14.
39. Leweke FM, Giuffrida A, Koethe D, Schreiber D, Nolden BM, Kranaster L, Neatby MA, Schneider M, Gerth CW, Hellmich M, Klosterkötter J, Piomelli D. Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of *cannabis* use. *Schizophr Res*. 2007;94(1-3):29-36.
40. Koethe D, Giuffrida A, Schreiber D, Hellmich M, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S, Klosterkötter J, Piomelli D, Leweke FM. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br J Psychiatry*. 2009 Apr;194(4):371-2. Erratum in: *Br J Psychiatry*. 2011; 198(6):495.
41. Yao JK, van Kammen DP, Reddy RD, Keshavan MS, Schmid PC, Berdyshev EV, Krebsbach RJ, Schmid HHO. Elevated endocannabinoids in plasma from patients with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2002;51:645-655.
42. Schwarz E, Whitfield P, Nahnsen S, Wang L, Major H, Leweke FM, Koethe D, Lio P, Bahn S. Alterations of primary fatty acid amides in serum of patients with severe mental illness. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011;3:308-14.
43. 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;2:5.
44. Potvin S, Kouassi E, Lipp O, Bouchard RH, Roy MA, Demers MF, Gendron A, Astarita G, Piomelli D, Stip E. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol*. 2008;22(3):262-9.
45. D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, Braley G, Gueorguieva R, Krystal JH. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(8):1558-72.
46. Müller-Vahl KR, Emrich HM. *Cannabis* and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev Neurother*. 2008;8(7):1037-48.
47. Roser P, Vollenweider FX, Kawohl W. Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (CB1) receptor antagonists. *World J Biol Psychiatry*. 2010;11(2 Pt 2):208-19.
48. Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. The endocannabinoid system and psychiatric disorders. *Exp Neurol*. 2010;224(1):3-14.