

17. Uso di cannabis in adolescenza come fattore di rischio per le malattie psichiatriche e la dipendenza da altre droghe

Rubino Tiziana¹, Zamberletti Erica¹, Parolaro Daniela^{1,2}

¹ Centro di Ricerca in Neuroscienze, Università degli Studi dell'Insubria

² Fondazione Zardi Gori, Milano

Il sistema endocannabinoide

L'identificazione dei recettori dei cannabinoidi come molecole target per i cannabinoidi esogeni quali il delta-9-tetraidrocannabinolo (THC), il principale e più abbondante composto attivo presente nella Cannabis sativa, ha spinto alla ricerca dell'esistenza di possibili ligandi endogeni per questi recettori portando alla fine all'identificazione del sistema endocannabinoide.

Il termine "sistema endocannabinoide" si riferisce ad un sistema di comunicazione cellulare recentemente caratterizzato presente sia nel sistema nervoso centrale che nei tessuti periferici, che comprende i recettori, i loro ligandi lipidici endogeni, e le proteine associate (trasportatori, enzimi biosintetici e degradativi). Ad oggi l'International Union of Basic and Clinical Pharmacology ha riconosciuto due tipi di recettori per i cannabinoidi, chiamati rispettivamente CB1 e CB2, in base all'ordine della loro scoperta (Matsuda et al., 1990; Munro et al., 1993), entrambi appartenenti alla superfamiglia dei recettori accoppiati alle proteine G.

Il recettore CB1 è un recettore presinaptico ampiamente espresso in tutto il cervello con elevata densità nello striato, nell'ippocampo, nel cervelletto e in densità da lieve a moderate nell'amigdala, nel mesencefalo e nella corteccia cerebrale (Herkenham et al., 1991; Glass and Felder, 1997). La sua attivazione inibisce il rilascio dei neurotrasmettitori dagli assoni terminali ed è ampiamente dimostrato che la maggior parte degli effetti dei cannabinoidi sul sistema nervoso centrale sono mediati dai recettori CB1. Il recettore CB1 è anche presente, seppur in minore densità, nei tessuti periferici, tra cui il fegato, gli adipociti, il pancreas esocrino, il tratto gastrointestinale, il muscolo scheletrico e le cellule immunitarie (Matias et al., 2006).

I recettori CB2 sono stati clonati alcuni anni più tardi (Munro et al., 1993) ed inizialmente si pensava fossero presenti solo nei tessuti periferici ed in particolare nelle cellule del sistema immunitario ed in tessuti quali la milza e il fegato. Lavori recenti documentano però la presenza di recettori CB2 anche

nel sistema nervoso centrale (Van Sickle et al., 2006 ; Gong et al., 2006; Brusco et al., 2008).

I recettori CB1, attraverso le proteine Gi/o, possono inibire l'attività dell'adenilato ciclasi, attivare la via delle MAP chinasi ed i canali del potassio ed inibire i canali del calcio; il recettore CB2 è invece accoppiato solo all'inibizione dell'adenilato ciclasi (Howlett, 2002).

La presenza di ligandi endogeni (endocannabinoidi) in grado di legare i recettori dei cannabinoidi è stata dimostrata subito dopo la caratterizzazione dei recettori. I primi ligandi endogeni che sono stati identificati sono l'anandamide (AEA) e l'arachidonoilglicerolo (2AG) (Devane et al., 1992; Sugiura et al., 1995; Stella et al., 1997). Entrambi sono derivati dell'acido arachidonico e vengono prodotti da precursori fosfolipidici attraverso l'attivazione attività-dipendente di specifiche fosfolipasi (Piomelli, 2003). Successivamente sono stati identificati come endocannabinoidi anche la N-arachidonoil-dopamina (NADA), l'N-arachidonoil-glycerol-etere (noladina) e l'O-arachidonoil-etanolamina, chiamata anche virodamina (De Petrocellis and Di Marzo, 2009).

I ligandi endogeni non condividono gli stessi percorsi biosintetici o metabolici, a dimostrazione dell'esistenza di distinti meccanismi di regolazione. Esistono infatti percorsi diversi per la formazione e il catabolismo dell'AEA e del 2-AG. Almeno 4 vie alternative possono produrre AEA dal precursore fosfolipidico N-arachidonoil-fosfatidil-etanolamina, la più diretta viene catalizzata da una fosfodiesterasi selettiva per le N-acyl-fosfatidiletanolamine (conversione diretta).

Il 2-AG viene sintetizzato principalmente attraverso l'attivazione della fosfolipasi C e la produzione successiva di diacilglicerolo che viene rapidamente convertito in 2-AG attraverso la diacilglicerolo lipasi.

Per quanto riguarda il catabolismo, dopo la loro ricaptazione, l'AEA viene idrolizzata dall'amide idrolasi degli acidi grassi (FAAH = Fatty Acid Amide Hydrolase) generando acido arachidonico e etanolamina, mentre il 2-AG viene metabolizzato principalmente attraverso la monoacilglicerolo lipasi (MAG lipasi), che porta alla formazione di acido arachidonico e glicerolo (Di Marzo and Petrosino, 2007). Sia l'AEA che il 2-AG, quando l'attività della MAGL o della FAAH sono sopresse, diventano substrato della cicloossigenasi 2 ed originano i corrispondenti derivati idroperossidi (Rouzer and Marnett, 2008). Oltre alla loro ben nota capacità di legarsi ai recettori CB1 e CB2, gli endocannabinoidi possono riconoscere anche altri recettori: ad esempio l'AEA può attivare il recettore intracellulare vanilloide di tipo 1 (TRPV1) (Ross, 2003). Infine lavori recenti suggeriscono che gli endocannabinoidi possono legare il recettore "orfano" associato alla G proteina chiamato GPR55 (Ryberg et al., 2007) ed i recettori nucleari "proliferator-activated" dei perossisomi (PPAR) (O'Sullivan, 2007).

I recettori CB1 e CB2 comunque sono i bersagli molecolari più studiati per l'AEA e il 2-AG che li attivano con diversa affinità. L'AEA ha la maggiore affinità per entrambi i recettori, mentre il 2-AG ha la maggiore efficacia. Infine è importante sottolineare che il sistema degli endocannabinoidi agisce in modo diverso dalla maggior parte dei sistemi di neurotrasmettitori. Più specificatamente, gli endocannabinoidi vengono rilasciati "su richiesta" dalle cellule post-sinaptiche, attraversano le sinapsi come messaggeri retrogradi e si legano ai recettori CB1 collocati pre-sinapticamente inibendo il rilascio dei neurotrasmettitori (Freund et al., 2003). Su tale base, il sistema endocannabinoidale può essere considerato un importante modulatore dell'attività dei più importanti neurotrasmettitori e partecipa quindi alla regolazione della plasticità sinaptica.

Infine, l'espressione dinamica di un sistema endocannabinoide durante lo sviluppo neuronale, quando i processi di neurogenesi sono più attivi, sottolinea il suo ruolo regolatorio nei periodi importanti per la morfogenesi e lo sviluppo neuronale. L'adolescenza rappresenta la fase finale della maturazione del cervello e si può ipotizzare che il sistema endocannabinoide continui a partecipare attivamente agli eventi finali di maturazione neuronale.

Ruolo del sistema endocannabinoide nello sviluppo cerebrale dell'adolescente

Negli ultimi dieci anni una serie di valide pubblicazioni scientifiche ha evidenziato che durante la vita fetale e neonatale il sistema endocannabinoide influenza significativamente lo sviluppo del sistema nervoso centrale, attraverso la modulazione di processi come la neurogenesi, la differenziazione neuronale, la crescita assonale e lo sviluppo di alcuni sistemi di neurotrasmettitori (Galve-Roperh et al., 2009). Recettori cannabinoidi funzionalmente attivi così come gli endocannabinoidi sono presenti sin dalle prime fasi dello sviluppo cerebrale (Fernandez Ruiz et al., 2004) e sono fondamentali nel regolare il passaggio dalla sinaptogenesi alla comunicazione sinaptica (Harkany et al., 2007; 2008).

Contrariamente ad ipotesi precedenti, lo sviluppo del cervello continua sia durante l'infanzia che nell'adolescenza, periodi della vita durante i quali sia il corpo che il cervello passano da uno stato di immaturità ad uno stato adulto (Spear, 2000; Steinberg and Morris, 2001).

L'adolescenza è caratterizzata da un cambiamento della strategia di sviluppo del sistema nervoso centrale, in particolare si passa da una fase di produzione di un ampio numero di neuroni alla creazione di cammini neuronali efficienti. Per raggiungere questo traguardo si attua un processo detto di rimodellamento sinaptico attraverso il quale alcune connessioni tra le cellule cerebrali vengono ridotte ed eliminate, mentre i neuroni, le sinapsi e i dendriti "utili" vengono preservati per il cervello adulto (Katz and Shatz, 1996; Cohen-Cory, 2002; Whitford et al., 2007; Luna, 2009).

Presumibilmente, ciò significa che le sinapsi importanti per la sopravvivenza e per le funzioni ottimali proliferano, mentre le connessioni che non vengono utilizzate vengono eliminate (vedi Bossong et al., 2010). Le sostanze esogene possono disturbare il rimodellamento neuronale che si verifica durante l'adolescenza rendendo questo periodo particolarmente vulnerabile.

La ricerca inerente il coinvolgimento del sistema endocannabinoide nello sviluppo del cervello dell'adolescente è molto scarsa. Considerando il ruolo neuromodulatorio del sistema endocannabinoide e la sua posizione strategica nelle sinapsi GABAergiche e glutamatergiche, è plausibile ipotizzare che esso sia coinvolto nel processo di perfezionamento della maturazione delle reti neurali. Questa ipotesi è indirettamente rinforzata da alcuni dati che enfatizzano la natura dinamica del sistema endocannabinoide nel cervello dell'adolescente.

Uno studio recente condotto nei ratti ha dimostrato infatti evidenti fluttuazioni durante l'adolescenza dei livelli degli endocannabinoidi nel nucleus accumbens (NAc) e nella corteccia prefrontale, aree cerebrali coinvolte nei meccanismi di ricompensa, e motivazione e nelle funzioni cognitive (Ellgren et al., 2008). L'alterazione più profonda è stata il continuo aumento dei livelli di AEA nella corteccia prefrontale durante il periodo adolescenziale: le concentrazioni di AEA erano circa 3 volte più elevate nella tarda adole-

scenza piuttosto che nella prima adolescenza. Al contrario, le concentrazioni di 2-AG erano ridotte nella corteccia prefrontale e nel nucleo accumbens nell'ultima fase dell'adolescenza. Questi risultati sono confermati anche da Wenger et al. (2002) che hanno riscontrato che i livelli di AEA nell'ipotalamo di ratti femmine raggiungevano il loro picco durante la pubertà e poi diminuivano durante l'età adulta. Il trattamento intermittente con delta 9 tetraidrocannabinolo (THC), il componente psicoattivo della cannabis provocava solo sulla una modesta alterazione nella maturazione del sistema endocannabinoide, inducendo un lieve ma significativo aumento della concentrazione di AEA nel nucleo accumbens dopo la prima iniezione (Ellgren et al., 2008). La specifica localizzazione dell'effetto indotto dal THC nel nucleo accumbens avvalora l'ipotesi che la via mesolimbica rappresenta una delle aree cerebrali più sensibili all'effetto della cannabis.

Oltre agli endocannabinoidi, anche i livelli dei recettori CB1 possono variare nella corteccia prefrontale e nel core del nucleo accumbens durante le diverse fasi dell'adolescenza, ma le alterazioni risultano meno marcate di quelle degli endocannabinoidi (Ellgren et al., 2008). Anche Rodriguez De Fonseca e coll. (1993) hanno dimostrato un incremento transitorio nell'espressione dei recettori CB1 durante la prima adolescenza che poi si riduce in età adulta. Nell'uomo, i livelli autoradiografici dei recettori CB1 nella corteccia prefrontale, nello striato e nell'ippocampo sembrano aumentare progressivamente dalla prima fase postnatale all'età adulta (Mato et al., 2003).

Più di recente, Eggan et al. (2010) hanno esaminato le variazioni dei livelli del recettore CB1 e del suo mRNA nella corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) di scimmie. La densità di recettore CB1 a livello assonale diminuisce in modo significativo negli strati 1 e 2 della corteccia durante il primo anno di vita, ma aumenta in modo significativo nello strato 4 specialmente durante l'adolescenza. Al contrario, i livelli di mRNA per il CB1 sono elevatissimi 1 settimana dopo la nascita, diminuiscono nei due mesi successivi e poi rimangono inalterati fino all'età adulta. Il rimodellamento postnatale della distribuzione dei recettori CB1 nei vari strati della corteccia suggerisce che tali recettori potrebbero essere importanti per lo sviluppo delle funzioni cognitive mediate dalla corteccia prefrontale dorsolaterale. Si ritiene infatti che la memoria di lavoro sia mediata da connessioni eccitatorie tra specifiche popolazioni di neuroni piramidali presenti nella corteccia prefrontale (Goldman-Rakic, 1995). Perciò, l'aumento durante lo sviluppo dei recettori CB1 nello strato 4 della corteccia e la conseguente maggiore capacità di soppressione dell'inibizione indotta dalla depolarizzazione (Pitler and Alger, 1992), potrebbe indurre una disinibizione attività-dipendente dei neuroni piramidali che condividono gli stessi input eccitatori (Carter and Wang, 2007), contribuendo al substrato neurale per una migliore funzionalità della memoria di lavoro.

Poiché la stimolazione dei recettori CB1 sopprime fortemente l'input inibitorio ai neuroni piramidali proveniente dai neuroni gabaergici CCK positivi, l'uso di cannabis durante l'adolescenza potrebbe provocare un'attivazione indiscriminata di questi recettori associati al normale equilibrio degli input inibitori del CB1R/CCK-IR e del PV-IR nella regione perisomatica dei neuroni piramidali del DLPFC (Eggan et al., 2010). Questo squilibrio durante un periodo vulnerabile potrebbe compromettere le traiettorie di sviluppo degli input gabaergici, producendo alterazioni persistenti nei circuiti che danneggiano i meccanismi della sincronia neuronale necessaria per la maturazione della memoria di lavoro.

In conclusione, ulteriori studi sono necessari per meglio caratterizzare i cam-

biamenti dell'ontogenesi del sistema endocannabinoide durante l'adolescenza e la loro importanza funzionale per la maturazione cerebrale. Si può comunque ipotizzare che il sistema continui ad esercitare un importante ruolo nel rimodellamento neuronale tipico di questo periodo. Perciò, la sua forte stimolazione attraverso cannabinoidi esogeni, quali il THC, può compromettere il ruolo regolatore del sistema endocannabinoide producendo conseguenze durature sulla funzione cerebrale adulta.

L'uso adolescenziale di cannabis e i disturbi psichiatrici

Nonostante l'elevata prevalenza di uso di cannabis tra gli adolescenti, non esistono ancora evidenze definitive sulla presenza di un'associazione tra l'uso di cannabis in adolescenza e il rischio di sviluppare disturbi psichiatrici. La grande variabilità dei risultati ottenuti negli studi epidemiologici, in parte giustificabile considerando il contesto culturale, sociale ed economico e il livello di istruzione dei soggetti in esame, rende difficile stabilire legami causali tra il consumo di marijuana in adolescenza e presenza di malattie psichiatriche in età adulta. L'uso di modelli sperimentali rappresenta una valida strategia per valutare correttamente la relazione tra l'uso di cannabis in adolescenza e la presenza di disordini psichiatrici in età adulta indipendentemente da fattori culturali, sociali, e morali. Gli studi sperimentali fornirebbero quindi dati più attendibili ma la difficoltà in questo caso è selezionare un modello animale che rispecchi realmente la malattia psichiatrica umana. I modelli attualmente disponibili risentono di diverse limitazioni e rappresentano solo certi aspetti delle patologie, rendendo così difficile la traslazione dei risultati alla condizione umana.

Fatte salve queste considerazioni, in questa rassegna verrà sintetizzata la più recente letteratura esistente sulla relazione tra l'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi e l'aumentato rischio di patologie neuropsichiatriche, prendendo in esame sia studi sperimentali che umani, e si cercherà di delineare il quadro più probabile che emerge da questi risultati.

Studi sperimentali

Sono ancora relativamente scarsi gli studi sperimentali si occupano degli effetti a lungo termine indotti dal trattamento cronico con cannabinoidi durante l'adolescenza. I risultati ottenuti sono spesso contrastanti, probabilmente a causa di differenze nei protocolli sperimentali utilizzati come ad esempio la specie utilizzata, il ceppo, l'agonista cannabinoide e lo schema di somministrazione. Tutte queste variabili rendono complicato il confronto dei dati.

Nonostante queste limitazioni, la letteratura esistente nel suo insieme sembra suggerire la presenza di alterazioni nei circuiti cerebrali dell'adulto dopo un forte consumo di cannabis durante l'adolescenza.

Verranno qui di seguito analizzati quattro aspetti degli effetti a lungo termine dell'esposizione adolescenziale alla cannabis e più precisamente gli aspetti cognitivi, quelli emotivi e psicotici e quelli relativi alla vulnerabilità all'abuso di droghe.

Disturbi cognitivi

Molte pubblicazioni riportano la presenza di deficit della memoria di riconoscimento dopo un trattamento cronico con cannabinoidi durante l'adolescenza che si evidenziano da 15 a 30 giorni dall'interruzione del trattamento (Schneider and Koch, 2003; O'Shea et al., 2004; 2006; Quinn et al., 2008; Realini et al., 2010). Questi deficit sono presenti sia nei maschi che nelle femmine, sono indotti da composti cannabinoidi sia naturali che sintetici, e non sono presenti quando il trattamento viene effettuato in età adulta. L'unico risultato discrepante è riportato da Higuera-Matas e colleghi (2009) che dopo trattamento cronico con CP55,940 durante l'adolescenza, non trovano alcun effetto significativo sulla memoria di riconoscimento sia nei ratti maschi che nelle femmine. Vale la pena comunque evidenziare come in questo esperimento gli animali siano stati testati dopo un periodo di astinenza più lungo, 59 giorni, e forse in questo intervallo di tempo, i cambiamenti comportamentali sono stati recuperati.

L'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi naturali o sintetici sia nei ratti maschi che nelle femmine non altera l'apprendimento spaziale valutato attraverso il test del labirinto ad acqua (Cha et al., 2006; 2007; Higuera-Matas et al., 2009), mentre in entrambi i sessi la memoria spaziale e di lavoro risulta compromessa dal trattamento con THC (Rubino et al., 2009a; 2009b).

Nel loro insieme questi dati suggeriscono che il deficit cognitivo potrebbe essere ristretto a particolari domini suggerendo una compromissione di specifici componenti dell'apprendimento e della memoria piuttosto che effetti diffusi.

Pochi lavori cercano di chiarire il possibile meccanismo cellulare alla base del deficit cognitivo indotto dall'esposizione ai cannabinoidi durante l'adolescenza. Quinn et al. (2008) riportano che il deficit osservato nella memoria di riconoscimento nei ratti maschi adulti dopo l'esposizione adolescenziale, può essere associato ad alterazioni presenti nei profili proteici ippocampali. Più specificatamente, sono state riscontrate alterazioni nelle proteine coinvolte nella regolazione dello stress ossidativo e nel funzionamento mitocondriale nonché nella citoarchitettura. In un nostro lavoro, abbiamo riscontrato che a fronte di un simile deficit nella memoria spaziale e di lavoro nei ratti maschi e femmine esposti al THC in adolescenza, le alterazioni delle proteine sinaptiche erano localizzate in regioni cerebrali diverse: l'ippocampo per i maschi e la corteccia prefrontale per le femmine. In particolare nei ratti femmine adulti esposti al THC durante l'adolescenza il deficit di memoria era correlato ad una significativa diminuzione di alcuni markers di plasticità sinaptica nella corteccia prefrontale e, come dimostrato dall'analisi proteomica dei sinaptosomi della stessa area cerebrale, alla presenza di sinapsi meno attive e caratterizzate da una minor abilità nel mantenere una normale efficienza (Rubino et al., 2009a). Nei ratti maschi adulti pre-esposti al THC durante l'adolescenza il deficit di memoria spaziale e di lavoro era invece correlato ad una significativa diminuzione dei markers di plasticità sinaptica e dei livelli del recettore NMDA del glutammato nell'ippocampo. I ratti maschi adulti preesposti al THC presentavano anche una minore lunghezza e ramificazione dell'albero dendritico così come una ridotta densità delle spine sinaptiche nel giro dentato (Rubino et al., 2009b), indicativa di una riduzione nei contatti sinaptici e/o della presenza di connessioni sinaptiche meno efficienti. La presenza di una vulnerabilità regione e sesso specifica avvalorava l'ipotesi che, almeno per alcuni compiti, maschi e femmine potrebbero utilizzare diversi percorsi neuronali per raggiungere la stessa finalità comportamentale (vedi

Andreano and Cahill, 2009).

Disturbi emotivi

L'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi può alterare la reattività emotiva in età adulta. Per quanto riguarda la presenza di uno stato d'ansia, nel test dell'"elevated plus maze" (labirinto sopra elevato) si sono ottenuti dati contrastanti. Infatti, mentre alcuni autori non riferiscono cambiamenti nel comportamento ansioso in animali pre-trattati con composti cannabinoidi durante l'adolescenza (Rubino et al., 2008; Higuera-Matas et al., 2009; Bambico et al., 2010; Mateos et al., 2010), altri hanno descritto un effetto ansiolitico (Bisaccia et al., 2003; Wegener and Koch, 2009). Quando viene invece effettuato il test dell'interazione sociale, tutti gli autori concordano che l'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi riduce il comportamento sociale (O'Shea et al., 2004; 2006; Leweke and Schneider, 2010; Realini et al., 2010). Una ridotta interazione sociale viene considerata indicativa di un effetto ansiogeno (File and Hyde, 1978), e perciò sembra che, a seconda del test utilizzato, l'esposizione in adolescenza potrebbe non indurre alcun cambiamento nel profilo dell'ansia, potrebbe essere ansiogenica o addirittura ansiolitica. Bisogna però ricordare che spesso i profili comportamentali osservati nel test dell'interazione sociale non si correlano bene con le performance negli altri test animali per l'ansia (Berton et al., 1997), perciò si potrebbe suggerire che il comportamento nel test dell'interazione sociale potrebbe riguardare altri domini psicologici diversi dall'ansia che potrebbero essere importanti per altri disturbi psicopatologici come la depressione (Pardon et al., 2002; Tönissaar et al., 2008).

In conclusione, non sembra esistere alcuna evidenza definitiva dell'effetto dell'esposizione adolescenziale alla cannabis sull'ansia, mentre certamente l'uso di cannabinoidi in adolescenza diminuisce l'attività sociale, uno dei principali sintomi presenti nei pazienti depressi (Nemeroff, 1998). Altre due comportamenti presenti negli animali che si possono associare alla depressione sono la disperazione comportamentale (misurata attraverso il test del nuoto forzato) e l'anedonia (incapacità di provare piacere, valutata come preferenza al consumo di saccarosio o di cibo appetibile). Entrambi i comportamenti sono presenti negli animali adulti dopo esposizione adolescenziale a cannabinoidi sia naturali che sintetici (Rubino et al., 2008; Realini et al., 2010; Bambico et al., 2010), a favore della presenza di un fenotipo depressivo. Il quadro comportamentale che caratterizza il fenotipo depressivo è accompagnato da alterazioni nei parametri biochimici associati a depressione, quali ad esempio una minore attivazione del fattore di trascrizione CREB nella corteccia prefrontale e nell'ippocampo, un'aumentata attivazione di CREB ed un incremento nei livelli di dinorfina nel nucleo accumbens ed una diminuzione della neurogenesi nel giro dentato dell'ippocampo. L'evento cellulare che probabilmente è alla base di questo complesso fenotipo depressivo è una ridotta funzionalità del recettore cannabico CB1 in specifiche aree cerebrali quali il nucleo accumbens, l'amigdala e la VTA (Rubino et al., 2008; Realini et al., 2010). Recentemente Bambico et al. (2010) hanno dimostrato che i comportamenti simildepressivi osservabili in età adulta negli animali trattati in adolescenza con cannabinoidi potrebbero essere causati da ipoattività serotoninergica e da iperattività noradrenergica. Infatti registrazioni elettrofisiologiche rivelano un'attenuata attività dei neuroni serotoninergici presenti nel Rafe dorsale e iperattività dei neuroni noradrenergici nel locus coeruleus di

animali adulti pre-esposti ai cannabinoidi durante l'adolescenza. Come già visto per i deficit cognitivi, il fenotipo depressivo non si sviluppa se la somministrazione cronica di cannabinoidi avviene in età adulta, indicando così (Realini et al., 2010; Bambico et al., 2010) l'esistenza di una vulnerabilità del cervello agli effetti avversi dei cannabinoidi dipendente dall'età.

Distrubi psicotici

Gli studi sperimentali che trattano gli effetti a lungo termine dell'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi sui comportamenti simil-psicotici nei roditori adulti sono molto scarsi. Ovviamente nell'animale da laboratorio è impossibile riprodurre patologie così complesse come le psicosi, la cui principale manifestazione è la schizofrenia. La schizofrenia è caratterizzata dalla presenza di sintomi positivi, negativi e cognitivi. I sintomi positivi comprendono agitazione, paranoia, delirio e allucinazioni. I sintomi negativi si riferiscono a perdita di motivazione, appiattimento affettivo, ridotta capacità di provare ed esprimere emozioni, povertà del linguaggio, ridotta capacità edonica. I sintomi cognitivi includono deficit di attenzione e della memoria di lavoro che portano all'incapacità di organizzare efficacemente la propria vita e il proprio lavoro.

I primi tentativi di sviluppare modelli sperimentali che mimassero l'intera patologia, si sono evoluti in sforzi più appropriati di modellare e studiare solo sintomi specifici. Gli effetti a lungo termine dell'esposizione ai cannabinoidi sulla dimensione cognitiva e sulla reattività emotiva sono già stati discussi nelle precedenti sezioni, in questa sezione ci si focalizzerà sui sintomi positivi. Alcuni sintomi della schizofrenia, come le allucinazioni uditive e il delirio, riguardano esclusivamente il genere umano; la letteratura sui modelli animali si è focalizzata su due principali categorie di comportamento: l'iperaattività motoria e l'inibizione della pair pulse inhibition (PPI). La PPI è considerata una misura del "gating sensorimotorio" che è ridotta nei pazienti affetti da schizofrenia (Braff et al., 2001; Perry et al., 2001). Il fatto che sia gli umani che gli animali presentino alterazioni nello stesso comportamento facilita l'uso di modelli animali di deficit del gating, perciò le misure del gating sensorimotorio sono tra i marcatori fisiologici più ampiamente studiati negli studi sperimentali sulla schizofrenia (Geyer, 2008). Soltanto due studi si sono occupati dell'effetto dell'esposizione puberale ai cannabinoidi sul gating sensorimotorio ed entrambi riportano un deficit a lungo termine (Schneider and Koch, 2003; Wegener and Koch, 2009).

Il concetto di testare l'iperattività locomotoria nei modelli animali come un sintomo di psicosi si basa sul presupposto che un aumento dell'attività dopaminergica nei ratti provoca aumento dell'attività motoria (Geyer, 2008) ed i cambiamenti dell'attività dopaminergica potrebbero essere coinvolti nei diversi gradi della sintomatologia (Van den Buuse, 2010). L'iperattività locomotoria quindi, sia basale che dopo il trattamento con sostanze psicoattive, quali anfetamina o fenciclidina, è stata ampiamente utilizzata come strumento comportamentale per indagare comportamenti simili alla psicosi. Come già visto per la PPI, pochi studi hanno indagato in modo approfondito l'attività locomotoria basale negli animali adulti pre-esposti ai cannabinoidi durante l'adolescenza e hanno riferito risultati contrastanti. In alcuni casi non si è evidenziata alcuna alterazione significativa (Biscaia et al., 2003; Rubino et al., 2008), mentre in altri si è riscontrata iperattività locomotoria (Wegener and Koch, 2009). Questo ultimo studio ha esaminato in specifiche regioni ce-

rebrali anche i livelli di cFos dopo trattamento con sostanze dopaminergiche (apomorfina e aloperidolo) di ratti trattati con cannabinoidi o con il veicolo durante l'adolescenza ed ha riscontrato una diversa risposta cerebrale a seconda del trattamento subito dagli animali. Finora, nessuno studio ha preso in considerazione l'effetto del trattamento adolescenziale con cannabinoidi sulla iperattività locomotoria indotta da farmaci psicomotori.

Nonostante le poche ricerche, i dati disponibili sembrano supportare l'ipotesi che l'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi possa rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di sintomi simil-psicotici in età adulta. Questa conclusione sembra essere più credibile quando viene presa in considerazione l'ipotesi "two-hit" (due fattori) della schizofrenia. Seconda questa ipotesi, fattori genetici o ambientali danneggiano lo sviluppo del sistema nervoso centrale, producendo una vulnerabilità a lungo termine ad un secondo fattore che porterebbe poi alla comparsa di sintomi schizofrenici. Ed infatti l'associazione di lesioni neonatali a livello della corteccia prefrontale con somministrazione cronica di cannabinoidi in età puberale produce gravi alterazioni del comportamento sociale (Schneider et al., 2005) e nella memoria di riconoscimento (Schneider and Koch, 2007), indicando così che la somministrazione di cannabinoidi in età puberale negli individui vulnerabili, potrebbe agire come fattore di rischio nell'aumentare i disturbi comportamentali. Un altro studio recente in linea con l'ipotesi "2-hit" ha dimostrato che l'esposizione adolescenziale al THC peggiora i danni alla memoria di riconoscimento indotti dalla somministrazione cronica intermittente di fenciclidina (PCP), un modello animale che riproduce il deficit cognitivo della schizofrenia (Vigano et al., 2009). A livello biochimico questo risultato appare associato ad una più pronunciata desensibilizzazione dei recettori CB1 nella corteccia prefrontale dei ratti trattati con THC+ PCP e ad una più grave riduzione dell'anandamide in questa stessa area cerebrale (Vigano et al., 2009).

Vulnerabilità ad altre droghe

Non sono a tutt'oggi disponibili risultati definitivi riguardo all'ipotesi che l'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi possa indurre un uso successivo di altre droghe.

Per quanto riguarda le droghe psicostimolanti, è stato riportato un aumento dell'acquisizione dell'auto-somministrazione di cocaina nei soli ratti femmine adulti pretrattati con cannabinoidi durante l'adolescenza (Higuera-Matas et al., 2008). Questo risultato è associato ad un incremento dei livelli del trasportatore della dopamina (DAT) nel caudato putamen (Higuera-Matas et al., 2010). Infatti, i ratti maschi che non presentavano alterazioni nell'auto-somministrazione di cocaina, non mostravano neppure cambiamenti nei livelli di DAT (Higuera-Matas et al., 2008; 2010). L'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi sintetici o naturali in ratti maschi non modifica le risposte all'amfetamina (Ellgren et al., 2004). Più recentemente, Rodriguez-Arias e colleghi (2010) riportano un aumento degli effetti di rinforzo dell'MDMA in ratti esposti ai cannabinoidi durante l'adolescenza.

Più consistenti sono i dati relativi agli oppiacei. Ratti maschi pre-esposti ai cannabinoidi in adolescenza presentano aumenti significativi nell'acquisizione dell'auto-somministrazione sia di morfina che di eroina ed hanno significative alterazioni del recettore oppioide μ nel sistema limbico (Ellgren et al., 2008; Biscaia et al., 2008). Tuttavia l'effetto è evidente soltanto quando i regimi per il rinforzo sono bassi. Lo stesso trattamento nei ratti femmine

non esercita alcun effetto (Biscaia et al., 2008). Più recentemente, Morel e colleghi (2009) hanno confermato il ruolo di facilitazione del THC durante l'adolescenza sul consumo di oppioidi in età adulta. Infatti l'uso cronico di dronabinolo durante l'adolescenza aumenta la sensibilità al condizionamento con morfina. Il dronabinolo in età adolescenziale aveva però effetti opposti se iniettato in ratti allontanati della madre durante il periodo neonatale. In questi animali infatti il trattamento con dronabinolo antagonizzava lo sviluppo del comportamento di condizionamento alla morfina (Morel et al., 2009). Questo ultimo risultato sembra suggerire un effetto benefico dei cannabinoidi come auto-medicazione in sottogruppi di individui soggetti a condizioni ambientali avverse durante l'infanzia.

Studi clinici

La marijuana continua ad essere la sostanza illegale più popolare tra i giovani ed il suo consumo negli ultimi anni è stato accompagnato da una riduzione dell'età del primo utilizzo (Monshouwer et al., 2005).

Nonostante ciò, le conseguenze del consumo adolescenziale di cannabis non sono ancora chiare. La maggior parte delle persone che ha fatto uso di cannabis non riporta effetti collaterali ma, in una minoranza di individui, un utilizzo pesante di cannabis durante l'adolescenza può avere conseguenze avverse sullo sviluppo psico-fisico, aumentando il rischio di sviluppare in futuro disordini cognitivi o malattie psichiatriche, quali psicosi e depressione (vedi Di Forti et al., 2007).

Disturbi cognitivi

Nelle persone adulte, l'intossicazione acuta da cannabis è stata associata ad una diminuzione transitoria e reversibile dell'attenzione, della memoria, delle funzioni esecutive e della percezione del tempo (vedi Solowij and Pesa, 2010).

Negli adolescenti, il consumo pesante e regolare di marijuana ha effetti negativi sull'apprendimento, la memoria e l'attenzione (Fried et al., 2005; Harvey et al., 2007; Medina et al., 2007a). Infatti, l'utilizzo di cannabis prima dei 16 anni è associato ad un peggioramento nel mantenimento dell'attenzione (Ehrenreich et al., 1999), e in un campione di ragazzi dell'età media di 17 anni il suo consumo è stato associato a minori punteggi QI (Pope et al., 2003). Non tutti gli studi sono però concordi nell'attribuire all'abuso di cannabis in adolescenza un peggioramento delle performance cognitive: in alcuni casi non è stato possibile dimostrare alcun danno cognitivo persistente in seguito all'utilizzo di cannabis (Pope et al., 2001).

Ciò che resta da chiarire è la misura nella quale tali deficit cognitivi persistano durante tutta la fase di astinenza.

Come esposto in precedenza, i deficit cognitivi indotti dalla cannabis in età adulta sembrano risolversi in seguito ad un'astinenza prolungata (Pope et al., 2002) mentre le ricerche sugli adolescenti ad oggi indicano che il danno cognitivo persiste sino ad un mese dopo l'ultimo utilizzo (Medina et al., 2007b). In uno studio recente, Hanson et al. (2010) hanno esaminato le funzioni cognitive tra i consumatori di cannabis adolescenti nelle tre settimane successive alla sospensione del consumo: nei consumatori di cannabis l'apprendi-

mento e la memoria di lavoro risultavano compromesse dopo circa 3 giorni di astinenza e tornavano a livello dei controlli dopo 2-3 settimane. Inoltre, i consumatori di cannabis in adolescenza mostravano deficit nell'attenzione che persistevano per 3 settimane di astinenza. Il meccanismo preciso attraverso il quale la cannabis compromette la performance cognitiva rimane tutt'ora sconosciuto anche se anomalie strutturali, ad esempio un ridotto volume ippocampale, sono stati correlati ad un'esposizione costante e prolungata alla cannabis (Yucel et al., 2008). Inoltre l'uso di cannabis potrebbe interferire con il metabolismo corticale in aree particolarmente coinvolte nei processi di attenzione e memoria (Eldreth et al., 2004). Recenti studi hanno dimostrato una stretta associazione tra l'esposizione adolescenziale alla cannabis e la comparsa di alterazioni anatomiche e funzionali a livello del sistema nervoso centrale, tra cui un'asimmetria ippocampale (Medina et al., 2007a), un'attivazione aberrante di diverse aree cerebrali (Schweinsburg et al., 2008a) e alterazioni della microstruttura della materia bianca (Bava et al., 2009). Inoltre, studi funzionali di neuroimaging condotti in persone che avevano fatto uso di cannabis durante l'adolescenza hanno dimostrato che alcune di queste anomalie strutturali persistono nonostante non sia più presente a livello fenotipico il deficit cognitivo (Padula et al., 2007; Schweinsburg et al., 2008b). Più recentemente, Medina et al. (2010) hanno dimostrato che un consumo di cannabis in adolescenza è associato ad anomalie nella struttura del cervelletto in stretta correlazione con un peggioramento delle funzioni esecutive. Questa anomalia strutturale risultava ancora presente dopo un mese di astinenza, indicando che anche quando i deficit cognitivi non erano più rilevabili, la funzione cerebrale restava compromessa.

Disturbi emotivi: depressione

A fronte delle numerose ricerche volte a chiarire l'impatto di un utilizzo di cannabis in adolescenza sulla performance cognitiva e i disturbi psicotici, l'associazione tra consumo adolescenziale di cannabis e sintomi depressivi ha ricevuto minore attenzione. Recentemente, sono in aumento evidenze circa un possibile legame tra alti livelli di consumo di marijuana e sviluppo di depressione tra i giovani di numerosi paesi (Degenhardt et al., 2003).

Uno studio condotto tra il 1992 e il 1998 in Australia ha dimostrato l'esistenza di una relazione tra l'utilizzo quotidiano di cannabis e l'insorgenza di depressione sia negli adolescenti che negli adulti e questa associazione risultava più comune nelle donne piuttosto che negli uomini (Patton et al., 2002). In particolare, l'uso di cannabis nelle ragazze di età inferiore ai 15 anni aumentava in modo significativo il rischio di sviluppare idee o tentativi di suicidio nei 15 anni successivi (Wilcox and Anthony, 2004). In un campione rappresentativo di Australiani di età compresa tra 13-17 anni, coloro che avevano utilizzato cannabis erano tre volte più a rischio di depressione rispetto a coloro che non l'avevano mai utilizzata (Rey et al., 2002). Fergusson e colleghi (2002) hanno riportato che gli adolescenti che hanno utilizzato cannabis 10 o più volte entro i 15-16 anni presentano una maggiore probabilità di soffrire di un disturbo dell'umore a quell'età. All'età di 20-21 anni, il 30% di coloro che utilizzavano cannabis almeno settimanalmente soffrivano di depressione (Fergusson et al., 2003).

Analogamente, Lee et al. (2008) hanno riscontrato una forte associazione tra il consumo di cannabis e sintomi depressivi modesti o gravi in un campione di ragazzi della comunità indigena di Arnhem Land, con tassi di depressione

più elevati nelle femmine piuttosto che nei maschi. Nel loro insieme questi dati sembrano indicare che l'utilizzo precoce e regolare di cannabis rappresenta un fattore di rischio per il successivo sviluppo di depressione. Al contrario, de Graaf et al. (2010), valutando l'associazione causale tra l'utilizzo di cannabis in età precoce (età <17 anni) ed il successivo rischio di depressione in soggetti di 17 paesi, hanno riscontrato solo un'associazione modesta tra i due fattori senza alcuna differenza di sesso. Questa apparente discrepanza potrebbe essere dovuta al fatto che nello studio non è stato considerato il livello di consumo di cannabis (continuativo o occasionale) in quanto solo un consumo pesante e continuativo della sostanza sembra essere associato ad una maggiore probabilità di sviluppare malattie psichiatriche.

Disturbi psicotici

Recenti studi sembrano suggerire che un consumo pesante di cannabis sia in grado di provocare episodi psicotici acuti e possa peggiorare i sintomi psicotici in pazienti già affetti da tale patologia. Tale rischio risulta essere maggiore nei soggetti con una storia familiare di psicosi (Henquet et al., 2005a).

L'esatta relazione tra consumo di cannabis e esordio di disturbi psicotici resta comunque da chiarire. In uno studio che coinvolgeva ragazzi tedeschi di età compresa tra i 14-24 anni è stato dimostrato che l'uso regolare di cannabis aumentava l'incidenza di sintomi psicotici nei successivi 4 anni (Henquet et al., 2005b). Questi risultati sono stati confermati da Ferdinand e colleghi (2005) in uno studio di follow-up di 14 anni sulla popolazione olandese, dove l'uso di cannabis era significativamente associato con la successiva insorgenza di sintomi psicotici in individui che non presentavano alcun sintomo al momento in cui avevano iniziato a consumare marijuana. Più recentemente, Le Bec et al. (2009), conducendo una metanalisi dei dati pubblicati e utilizzando specifici criteri di causalità, hanno dimostrato che l'uso di cannabis rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di disturbi psicotici. L'ipotesi è stata ulteriormente rafforzata da McGrath et al. (2010) utilizzando un'analisi in una coorte di coppie di fratelli.

Non bisogna però scordare che esistono anche dati che supportano l'esistenza di una relazione inversa, ovvero la presenza di sintomi psicotici in coloro che non hanno mai utilizzato cannabis sembra essere associata ad un uso successivo di cannabis (vedi Dekker et al., 2009).

Un fattore determinante per l'associazione tra consumo di cannabis e insorgenza di psicosi è l'età in cui tale consumo ha inizio. In uno studio condotto in Nuova Zelanda è stato infatti dimostrato che un consumo di cannabis entro l'età di 18 anni o 15 anni rispettivamente raddoppia e quadruplica il rischio di sviluppare disturbi psicotici all'età di 26 anni (Arseneault et al., 2002). L'utilizzo di cannabis ad un'età precoce sembra essere strettamente correlato ad un esordio precoce di sintomi psicotici (Dragt et al., 2010). Le ragioni di questa associazione non sono ancora chiare, ma è noto che le sostanze d'abuso agiscono su circuiti cerebrali coinvolti nella gratificazione, nei processi decisionali, nell'attenzione, nell'apprendimento e nella memoria e nel controllo comportamentale e dal momento che tali processi sono ancora in corso di maturazione durante l'adolescenza, un consumo di cannabis in questo periodo potrebbe causare alterazioni neurobiologiche che potrebbero aumentare il rischio di sviluppare successivamente disturbi psicotici.

E' altresì noto che i cannabinoidi sono in grado di peggiorare i sintomi psicotici e di causare ricadute ed hanno conseguenze negative sul decorso della

patologia (D'Souza et al., 2009). Certamente non tutti i consumatori di cannabis sviluppano psicosi, il che indica che l'uso di cannabis deve essere associato ad altri fattori noti e non noti quali la vulnerabilità genetica e/o fattori ambientali per poter essere correlato allo sviluppo successivo di psicosi (Semple et al., 2005; Caspi et al., 2005; Fergusson et al., 2006a, Henquet et al., 2008, 2009, Dominguez et al., 2010).

Ulteriori studi saranno necessari per comprendere i meccanismi alla base di tale correlazione. A tale scopo sarà indispensabile caratterizzare il ruolo del sistema endocannabinoide nello sviluppo neuronale che si verifica durante l'adolescenza.

Vulnerabilità ad altre droghe

I dati epidemiologici sembrano indicare che un uso costante e pesante di cannabis può essere associato ad un aumentato rischio di uso, abuso, o successiva dipendenza da altre sostanze d'abuso. La cannabis tra gli adolescenti potrebbe rappresentare quindi una sostanza "ponte", ovvero facilitare l'avvicinamento successivo ad altre sostanze d'abuso (Fergusson et al., 2006b).

Dimostrare tale correlazione risulta difficile, in quanto altre variabili, quali fattori ambientali o genetici, possono influenzare la tendenza del singolo individuo ad approcciarsi ad altre droghe.

In uno studio di Wagner e Anthony (2002) è stato dimostrato che non esiste una causalità tra abuso di cannabis e successivo consumo di altre droghe ma tale correlazione dipende fortemente da più variabili contestuali. Un altro studio ha dimostrato che, rispetto ai non consumatori, i consumatori di cannabis hanno una maggiore probabilità di uso successivo di altre sostanze illecite e questa relazione è mediata principalmente da fattori ambientali (Lessem et al., 2006).

Lynskey et al. (2003) hanno riscontrato che sia gemelli monozigoti che biziogoti che avevano utilizzato cannabis prima dei 17 anni, presentavano una più alta probabilità rispetto ai loro fratelli gemelli di utilizzare successivamente droghe pesanti. Al contrario, Cleveland e Wiebe (2008) hanno dimostrato che il consumo precoce di cannabis tra gemelli monozigoti non era predittivo di differenze nell'uso di droghe successivamente, suggerendo che l'effetto "gateway" potrebbe esser influenzato da fattori genetici.

Più recentemente, un'indagine epidemiologica condotta in 17 Paesi del mondo da Degenhardt et al. (2010) ha fornito evidenze circa una possibile associazione tra l'utilizzo di cannabis ed il successivo abuso di altre sostanze illecite e tale relazione era legata alla prevalenza d'uso della sostanza gateway, suggerendo inoltre che l'età di inizio e il livello di esposizione a qualsiasi altra sostanza sono i più importanti elementi predittivi. Un altro studio ha dimostrato che l'uso di cannabis occasionale durante l'adolescenza che persiste nei primi anni dell'età adulta è chiaramente correlato ad un aumentato rischio di consumo successivo di sostanze illecite (Degenhardt et al., 2010). Alla base di tale associazione potrebbero esserci fattori biochimici legati al forte sviluppo cerebrale che caratterizza l'adolescenza e quindi insulti ambientali, quali un consumo di droga, in questo periodo della vita potrebbero aumentare la propensione dell'individuo ad abusare di altre sostanze nell'età adulta (Hall and Lynskey, 2005). Per esempio, la cannabis, alterando il sistema oppiaceo, potrebbe indurre un'elaborazione edonica che promuove l'uso successivo di oppioidi (Ellgren et al., 2007).



Conclusioni

L'abuso di sostanze stupefacenti ha inizio in genere durante l'adolescenza, un periodo caratterizzato da un forte sviluppo neuronale, e non sorprende quindi che l'insorgenza di disturbi psichiatrici legati al suo abuso si possa riscontrare più frequentemente nei giovani. In generale, gli studi clinici sono concordi nell'affermare che tanto più è precoce l'inizio del consumo di cannabis maggiore risulta il rischio di sviluppare successivamente disordini psichiatrici o dipendenza da altre sostanze da abuso.

Le cause neurobiologiche alla base della vulnerabilità che si riscontra nell'adolescente rimangono ancora da chiarire e a questo scopo sarà necessario condurre approfonditi studi sperimentali volti a spiegare i meccanismi cellulari e molecolari responsabili della vulnerabilità.

I dati ad oggi disponibili indicano che un consumo pesante di cannabis in adolescenza è in grado di modificare in modo permanente alcuni circuiti neuronali in specifiche aree cerebrali e tali modifiche possono aumentare la probabilità di sviluppare disturbi psichiatrici in età adulta.

Bibliografia

- Andreano JM, Cahill L (2009) Sex influences on the neurobiology of learning and memory. *Learn Mem* 16: 248-266.
- Arseneault L, Cannon M, Poulton R, Murray R, Caspi A, Moffitt TE (2002) Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ* 325: 1212-1213.
- Bambico FR, Nguyen NT, Katz N, Gobbi G (2010) Chronic exposure to cannabinoids during adolescence but not during adulthood impairs emotional behaviour and monoaminergic neurotransmission. *Neurobiol Dis* 37: 641-655.
- Bava S, Jacobus J, Mahmood O, Yang TT, Tapert SF (2009) Neurocognitive correlates of white matter quality in adolescent substance users. *Brain Cogn* 72: 347-354.
- Berton O, Ramos A, Chaoulloff F, Mormde P (1997) Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains. *Behav Genet* 27: 155-166.
- Biscaia M, Marín S, Fernández B, Marco EM, Rubio M, Guaza C, Ambrosio E, Viveros MP (2003) Chronic treatment with CP 55,940 during the peri-adolescent period differentially

affects the behavioural responses of male and female rats in adulthood. *Psychopharmacology (Berl)* 170: 301-308.

- Bíscaia M, Fernández B, Higuera-Matas A, Miguéns M, Viveros MP, García-Lecumberri C, Ambrosio E (2008) Sex-dependent effects of periadolescent exposure to the cannabinoid agonist CP-55,940 on morphine self-administration behaviour and the endogenous opioid system. *Neuropharmacology* 54: 863-873.
- Bossong MG, Niesink RJM (2010) Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol* 92: 370-385.
- Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR (2001) Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology (Berl)* 156: 234-258.
- Brusco A, Tagliaferro PA, Saez T, Onaivi ES (2008) Ultrastructural localization of neuronal brain CB2 cannabinoid receptors. *Ann NY Acad Sci* 1139: 450-457.
- Carter E, Wang XJ (2007) Cannabinoid-mediated disinhibition and working memory: dynamical interplay of multiple feedback mechanisms in a continuous attractor model of prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 1: 16-26.
- Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, Taylor A, Arseneault L, Williams B, Braithwaite A, Poulton R, Craig IW (2005) Moderation of the effect of adolescent onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene x environment interaction. *Biol Psychiatry* 57: 1117-1127.
- Cha YM, White AM, Kuhn CM, Wilson WA, Swartzwelder HS (2006) Differential effects of delta9-THC on learning in adolescent and adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 83: 448-455.
- Cha YM, Jones KH, Kuhn CM, Wilson WA, Swartzwelder HS (2007) Sex differences in the effects of delta9-tetrahydrocannabinol on spatial learning in adolescent and adult rats. *Behav Pharmacol* 18: 563-569.
- Cleveland HH, Wiebe RP (2008) Understanding the association between adolescent marijuana use and later serious drug use: gateway effect or developmental trajectory? *Dev Psychopathol* 20: 615-632.
- Cohen-Cory S (2002) The developing synapse: construction and modulation of synaptic structures and circuits. *Science* 298 : 770-776.
- de Graaf R, Radovanovic M, van Laar M, Fairman B, Degenhardt L, Aguilar-Gaxiola S, Bruffaerts R, de Girolamo G, Fayyad J, Gureje O, Haro JM, Huang Y, Kostychenko S, Lépine JP, Matschinger H, Mora ME, Neumark Y, Ormel J, Posada-Villa J, Stein DJ, Tachimori H, Wells JE, Anthony JC (2010) Early cannabis use and estimated risk of later onset of depression spells: Epidemiologic evidence from the population-based World Health Organization World Mental Health Survey Initiative. *Am J Epidemiol* 172:149-159.
- De Petrocellis L, Di Marzo V (2009) An introduction to the endocannabinoid system: from the early to the latest concepts. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23: 1-15.
- Degenhardt L, Hall W, Lynskey M (2003) Exploring the association between cannabis use and depression. *Addiction* 98: 1493-1504.
- Degenhardt L, Dierker L, Chiu WT, Medina-Mora ME, Neumark Y, Sampson N, Alonso J, Angermeyer M, Anthony JC, Bruffaerts R, de Girolamo G, de Graaf R, Gureje O, Karam AN, Kostyuchenko S, Lee S, Lépine JP, Levinson D, Nakamura Y, Posada-Villa J, Stein D, Wells JE, Kessler RC (2010) Evaluating the drug use “gateway” theory using cross-national data: consistency and associations of the order of initiation of drug use among participants in the WHO World Mental Health Surveys. *Drug Alcohol Depend* 108:84-97.
- Dekker N, Linszen DH, De Haan L (2009) Reasons for cannabis use and effects of cannabis use as reported by patients with psychotic disorders. *Psychopathology* 42: 350-360.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258: 1946-1949.
- Di Forti M, Morrison PD, Butt A, Murray RM (2007) Cannabis use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg? *Curr Opin Psychiatry* 20: 228-234.
- Di Marzo V, Petrosino S (2007) Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol* 18: 129-140.
- Dominguez MD, Saka MC, Lieb R, Wittchen HU, van Os J (2010) Early expression of negative/disorganized symptoms predicting psychotic experiences and subsequent clinical psychosis: a 10-year study. *Am J Psychiatry* 167: 1075-1082.
- Dragt S, Nieman DH, Becker HE, van de Fliert R, Dingemans PM, de Haan L, van Amelsvoort TA, Linszen DH (2010) Age of onset of cannabis use is associated with age of onset of high-risk symptoms for psychosis. *Can J Psychiatry* 55: 165-171.
- D’Souza DC, Sewell RA, Ranganathan M (2009) Cannabis and psychosis/schizophrenia: human studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259: 413-431.



- Eggen SM, Mizoguchi Y, Stoyak SR, Lewis DA (2010) Development of cannabinoid 1 receptor protein and messenger RNA in monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 20: 1164-1174.
- Ehrenreich H, Rinn T, Kunert HJ, Moeller MR, Poser W, Schilling L, Gigerenzer G, Hoehe MR (1999) Specific attentional dysfunction in adults following early start of cannabis use. *Psychopharmacology (Berl)* 142: 295-301.
- Eldreth DA, Matochik JA, Cadet JL, Bolla KI (2004) Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users. *Neuroimage* 23: 914-920.
- Ellgren M, Hurd YL, Franck J (2004) Amphetamine effects on dopamine levels and behavior following cannabinoid exposure during adolescence. *Eur J Pharmacol* 497 : 205-213.
- Ellgren M, Spano SM, Hurd YL (2007) Adolescent cannabis exposure alters opiate intake and opioid limbic neuronal populations in adult rats. *Neuropsychopharmacology* 32: 607-615.
- Ellgren M, Artmann A, Tkalych O, Gupta A, Hansen HS, Hansen SH, Devi LA, Hurd YL (2008) Dynamic changes of the endogenous cannabinoid and opioid mesocorticolimbic systems during adolescence: THC effects. *Eur Neuropsychopharmacol* 18: 826-834.
- Ferdinand RF, van der Ende J, Bongers I, Selten JP, Huizink A, Verhulst FC (2005) Cannabis-psychosis pathway independent of other types of psychopathology. *Schizophr Res* 79: 289-295.
- Fergusson DM, Horwood LJ, Swain-Campbell N (2002) Cannabis use and psychosocial adjustment in adolescence and young adulthood. *Addiction* 97: 1123-1135.
- Fergusson DM, Horwood LJ, Lynskey MT, Madden PA (2003) Early reactions to cannabis predict later dependence. *Arch Gen Psychiatry* 60: 1033-1039.
- Fergusson DM, Poulton R, Smith PF, Boden JM (2006a) Cannabis and psychosis. *BMJ* 332: 172-175.
- Fergusson DM, Boden JM, Horwood LJ (2006b) Cannabis use and other illicit drug use: testing the cannabis gateway hypothesis. *Addiction* 101: 556-566.
- Fernández-Ruiz J, Gómez M, Hernández M, de Miguel R, Ramos JA (2004) Cannabinoids and gene expression during brain development. *Neurotox Res* 6: 389-401.
- File SE, Hyde JR (1978) Can social interaction be used to measure anxiety? *Br J Pharmacol* 62: 19-24.
- Freund TF, Katona I, Piomelli D (2003) Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 83: 1017-1066.
- Fried PA, Watkinson B, Gray R. (2005) Neurocognitive consequences of marijuana – a comparison with predrug performance. *Neurotoxicol Teratol* 27, 231-239.
- Galve-Roperh I, Palazuelos J, Aguado T, Guzmán M (2009) The endocannabinoid system and the regulation of neural development: potential implications in psychiatric disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259: 371-382.
- Geyer MA (2008) Developing translational animal models for symptoms of schizophrenia or bipolar mania. *Neurotox Res* 14: 71-78.
- Glass M, Felder CC (1997) Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. *J Neurosci* 17: 5327-5333.
- Goldman-Rakic PS. (1995) Cellular basis of working memory. *Neuron* 14, 477-485.
- Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A, Uhl GR (2006) Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res* 1071: 10-23.
- Hall WD, Lynskey M (2005) Is cannabis a gateway drug? Testing hypotheses about the relationship between cannabis use and the use of other illicit drugs. *Drug Alcohol Rev* 24: 39-48.
- Hanson KL, Winward JL, Schweinsburg AD, Medina KL, Brown SA, Tapert SF (2010) Longitudinal study of cognition among adolescent marijuana users over three weeks of abstinence. *Addict Behav* 35: 970-976.
- Harkany T, Guzmán M, Galve-Roperh I, Berghuis P, Devi LA, Mackie K (2007) The emerging functions of endocannabinoid signaling during CNS development. *Trends Pharmacol Sci* 28 : 83-92.
- Harkany T, Mackie K, Doherty P (2008) Wiring and firing neuronal networks: endocannabinoids take center stage. *Curr Opin Neurobiol* 18: 338-345.
- Harvey MA, Sellman JD, Porter RJ, Frampton CM (2007) The relationship between non-acute adolescent cannabis use and cognition. *Drug Alcohol Rev* 26: 309-319.
- Henquet C, Murray R, Linszen D, van Os J (2005a) The environment and schizophrenia: the role of cannabis use. *Schizophr Bull* 31: 608-612.
- Henquet C, Krabbendam L, Spauwen J, Kaplan C, Lieb R, Wittchen HU, van Os J (2005b) Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *BMJ* 330: 11. Henquet C, Di Forti M, Morrison P, Kuepper R, Murray RM (2008) Gene-environment interplay between cannabis and psychosis. *Schizo-*

- phr Bull 34: 1111-1121.
- Henquet C, Rosa A, Delespaul P, Papiol S, Fananás L, van Os J, Myin-Germeys I (2009) COMT ValMet moderation of cannabis-induced psychosis: a momentary assessment study of 'switching on' hallucinations in the flow of daily life. *Acta Psychiatr Scand* 119 : 156-160.
 - Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1991) Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 11: 563-583.
 - Higuera-Matas A, Soto-Montenegro ML, del Olmo N, Miguéns M, Torres I, Vaquero JJ, Sánchez J, García-Lecumberri C, Desco M, Ambrosio E (2008) Augmented acquisition of cocaine self-administration and altered brain glucose metabolism in adult female but not male rats exposed to a cannabinoid agonist during adolescence. *Neuropsychopharmacology* 33: 806-813.
 - Higuera-Matas A, Botreau F, Del Olmo N, Miguéns M, Olías O, Montoya GL, García-Lecumberri C, Ambrosio E (2010) Periadolescent exposure to cannabinoids alters the striatal and hippocampal dopaminergic system in the adult rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol* doi:10.1016/j.euroneuro.2010.06.017
 - Howlett AC (2002) The cannabinoid receptors. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 68-69: 619-631.
 - Katz LC, Shatz CJ (1996) Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274: 1133-1138.
 - Le Bec PY, Fatséas M, Denis C, Lavie E, Auriacombe M (2009) Cannabis and psychosis: search of a causal link through a critical and systematic review. *Encephale* 35: 377-385.
 - Lee KS, Clough AR, Jaragba MJ, Conigrave KM, Patton GC (2008) Heavy cannabis use and depressive symptoms in three Aboriginal communities in Arnhem Land, Northern Territory. *Med J Aust* 188: 605-608.
 - Lessem JM, Hopfer CJ, Haberstick BC, Timberlake D, Ehringer MA, Smolen A, Hewitt JK (2006) Relationship between adolescent marijuana use and young adult illicit drug use. *Behav Genet* 36: 498-506.
 - Leweke FM, Schneider M (2010) Chronic pubertal cannabinoid treatment as a behavioural model for aspects of schizophrenia: effects of the atypical antipsychotic quetiapine. *Int J Neuropsychopharmacol* 3: 1-9.
 - Luna B (2009) Developmental changes in cognitive control through adolescence. *Adv Child Dev Behav* 37: 233-278.
 - Lynskey MT, Heath AC, Bucholz KK, Slutske WS, Madden PA, Nelson EC, Statham DJ, Martin NG (2003) Escalation of drug use in early-onset cannabis users vs co-twin controls. *JAMA* 289: 427-433.
 - Mateos B, Borcel E, Loriga R, Luesu W, Bini V, Llorente R, Castelli M, Viveros MP (2010) Adolescent exposure to nicotine and/or the cannabinoid agonist CP 55,940 induces gender-dependent long-lasting memory impairments and changes in brain nicotinic and CB1 cannabinoid receptors. *J Psychopharmacol* doi:10.1177/0269881110370503
 - Matias I, Bisogno T, Di Marzo V (2006) Endogenous cannabinoids in the brain and peripheral tissues: regulation of their levels and control of food intake. *Int J Obes (Lond)* 1: S7-S12.
 - Mato S, Del Olmo E, Pazos A (2003) Ontogenetic development of cannabinoid receptor expression and signal transduction functionality in the human brain. *Eur J Neurosci* 17 : 1747-1754.
 - Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346: 561-564.
 - McGrath J, Welham J, Scott J, Varghese D, Degenhardt L, Hayatbakhsh MR, Alati R, Williams GM, Bor W, Najman JM (2010) Association between cannabis use and psychosis-related outcomes using sibling pair analysis in a cohort of young adults. *Arch Gen Psychiatry* 67: 440-447.
 - Medina KL, Schweinsburg AD, Cohen-Zion M, Nagel BJ, Tapert SF (2007a) Effects of alcohol and combined marijuana and alcohol use during adolescence on hippocampal volume and asymmetry. *Neurotoxicol Teratol* 29: 141-152.
 - Medina KL, Hanson KL, Schweinsburg AD, Cohen-Zion M, Nagel BJ, Tapert SF (2007b) Neuropsychological functioning in adolescent marijuana users: subtle deficits detectable after a month of abstinence. *J Int Neuropsychol Soc* 13 : 807-820.
 - Medina KL, Nagel BJ, Tapert SF (2010) Abnormal cerebellar morphometry in abstinent adolescent marijuana users. *Psychiatry Res* 30: 152-159.
 - Monshouwer K, Smit F, de Graaf R, van Os J, Vollebergh W (2005) First cannabis use: does onset shift to younger ages? Findings from 1988 to 2003 from the Dutch National School Survey on Substance Use. *Addiction* 100: 963-970.
 - Morel LJ, Giros B, Daugé V (2009) Adolescent exposure to chronic delta-9-tetrahydrocannabinol blocks opiate dependence in maternally deprived rats. *Neuropsychopharmacology* 34: 2469-2476.



- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993) Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365: 61-65.
- Nemeroff CB (1998) The neurobiology of depression. *Sci Am* 278: 42-49.
- O'Shea M, Singh ME, McGregor IS, Mallet PE (2004) Chronic cannabinoid exposure produces lasting memory impairment and increased anxiety in adolescent but not adult rats. *J Psychopharmacol* 18: 502-508.
- O'Shea M, McGregor IS, Mallet PE (2006) Repeated cannabinoid exposure during perinatal, adolescent or early adult ages produces similar longlasting deficits in object recognition and reduced social interaction in rats. *J Psychopharmacol* 20: 611-621.
- O'Sullivan SE (2007) Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br J Pharmacol* 152: 576-582.
- Padula CB, Schweinsburg AD, Tapert SF (2007) Spatial working memory performance and fMRI activation interaction in abstinent adolescent marijuana users. *Psychol Addict Behav* 21: 478-487.
- Pardon MC, Gould GG, Garcia A, Phillips L, Cook MC, Miller SA, Mason PA, Morilak DA (2002) Stress reactivity of the brain noradrenergic system in three rat strains differing in their neuroendocrine and behavioral responses to stress: implications for susceptibility to stress-related neuropsychiatric disorders. *Neuroscience* 115: 229-242.
- Patton GC, Coffey C, Carlin JB, Degenhardt L, Lynskey M, Hall W (2002) Cannabis use and mental health in young people: cohort study. *BMJ* 325: 1195-1198.
- Perry W, Minassian A, Feifel D, Braff DL (2001) Sensorimotor gating deficits in bipolar disorder patients with acute psychotic mania. *Biol Psychiatry* 50: 418-424.
- Piomelli D (2003) The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* 4: 873-884.
- Pitler TA, Alger BE (1992) Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABAA responses in hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 12: 4122-4132.
- Pope HG Jr, Gruber AJ, Yurgelun-Todd D (2001) Residual neuropsychologic effects of cannabis. *Curr Psychiatry Rep* 3: 507-512.
- Pope HG, Gruber AJ, Hudson JI, Huestis MA, Yurgelun-Todd D. (2002) Cognitive measures in long-term cannabis users. *J Clin Pharmacol* 42, 41S-47S.
- Pope HG Jr, Gruber AJ, Hudson JI, Cohane G, Huestis MA, Yurgelun-Todd D (2003) Early-onset cannabis use and cognitive deficits: what is the nature of the association? *Drug Alcohol Depend* 69: 303-310.
- Quinn HR, Matsumoto I, Callaghan PD, Long LE, Arnold JC, Gunasekaran N, Thompson MR, Dawson B, Mallet PE, Kashem MA, Matsuda-Matsumoto H, Iwazaki T, McGregor IS (2008) Adolescent rats find repeated Delta(9)-THC less aversive than adult rats but display greater residual cognitive deficits and changes in hippocampal protein expression following exposure. *Neuropsychopharmacology* 33: 1113-1126.
- Realini N, Vigano D, Guidali C, Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D (2010) Chronic URB597 treatment at adulthood reverted most depressive-like symptoms induced by adolescent exposure to THC in female rats. *Neuropharmacology*, doi: 10.1016/j.neuropharm.2010.09.003
- Rey JM, Sawyer MG, Raphael B, Patton GC, Lynskey M (2002) Mental health of teenagers who use cannabis. Results of an Australian survey. *Br J Psychiatry* 180: 216-221.
- Rodríguez de Fonseca F, Ramos JA, Bonnín A, Fernández-Ruiz JJ (1993) Presence of cannabinoid binding sites in the brain from early postnatal ages. *Neuroreport* 4:135-138.
- Rodríguez-Arias M, Manzanedo C, Roger-Sánchez C, Do Couto BR, Aguilar MA, Miñarro J (2010) Effect of adolescent exposure to WIN 55212-2 on the acquisition and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34 : 166-171.
- Ross RA (2003) Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. *Br J Pharmacol* 140: 790-801.
- Rouzer CA, Marnett LJ (2008) Non-redundant functions of cyclooxygenases: oxygenation of endocannabinoids. *J Biol Chem* 283: 8065-8069.
- Rubino T, Viganò D, Realini N, Guidali C, Braida D, Capurro V, Castiglioni C, Cherubino F, Romualdi P, Candeletti S, Sala M, Parolaro D (2008) Chronic delta 9-tetrahydrocannabinol during adolescence provokes sex-dependent changes in the emotional profile in adult rats: behavioral and biochemical correlates. *Neuropsychopharmacology* 33: 2760-2771.
- Rubino T, Realini N, Braida D, Alberio T, Capurro V, Viganò D, Guidali C, Sala M, Fasano M, Parolaro D (2009a) The depressive phenotype induced in adult female rats by adolescent exposure to THC is associated with cognitive impairment and altered neuroplasticity in the prefrontal cortex. *Neurotox Res* 15: 291-302.
- Rubino T, Realini N, Braida D, Guidi S, Capurro V, Viganò D, Guidali C, Pinter M, Sala M, Bartesaghi R, Parolaro D (2009b) Changes in hippocampal morphology and neuroplasticity induced by adolescent THC treatment are associated with cognitive impairment in adulthood. *Hippocampus* 19: 763-772.
- Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson NO, Leonova J, Elebring T, Nilsson

- K, Drmota T, Greasley PJ (2007) The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 152: 1092-1101.
- Schneider M, Koch M (2003) Chronic pubertal, but not adult chronic cannabinoid treatment impairs sensorimotor gating, recognition memory, and the performance in a progressive ratio task in adult rats. *Neuropsychopharmacology* 28: 1760-1769.
 - Schneider M, Drews E, Koch M (2005) Behavioral effects in adult rats of chronic prepubertal treatment with the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. *Behav Pharmacol* 16: 447-454.
 - Schneider M, Koch M (2007) The effect of chronic peripubertal cannabinoid treatment on deficient object recognition memory in rats after neonatal mPFC lesion. *Eur Neuropsychopharmacol* 17: 180-186.
 - Schweinsburg AD, Brown SA, Tapert SF (2008a) The influence of marijuana use on neurocognitive functioning in adolescents. *Curr Drug Abuse Rev* 1: 99-111.
 - Schweinsburg AD, Nagel BJ, Schweinsburg BC, Park A, Theilmann RJ, Tapert SF (2008b) Abstinent adolescent marijuana users show altered fMRI response during spatial working memory. *Psychiatry Res* 163: 40-51.
 - Semple DM, McIntosh AM, Lawrie SM (2005) Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol* 19: 187-194.
 - Solowij N, Pesa N (2010) Cognitive abnormalities and cannabis use. *Rev Bras Psiquiatr* 32: 31-40.
 - Spear L (2000) Modeling adolescent development and alcohol use in animals. *Alcohol Res Health* 24: 115-123.
 - Steinberg L, Morris AS (2001) Adolescent development. *Annu Rev Psychol* 52: 83-110.
 - Stella N, Schweitzer P, Piomelli D (1997) A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 388: 773-778.
 - Sugiyama T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K (1995) 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 215: 89-97.
 - Tõnissaar M, Herm L, Eller M, Kõiv K, Rinken A, Harro J (2008) Rats with high or low sociability are differently affected by chronic variable stress. *Neuroscience* 152: 867-876.
 - van den Buuse M (2010) Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. *Schizophr Bull* 36: 246-270.
 - 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 (2005) Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 310: 329-332.
 - Vigano D, Guidali C, Petrosino S, Realini N, Rubino T, Di Marzo V, Parolaro D (2009) Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 12: 599-614.
 - Wagner FA, Anthony JC (2002) Into the world of illegal drug use: exposure opportunity and other mechanisms linking the use of alcohol, tobacco, marijuana, and cocaine. *Am J Epidemiol* 155: 918-925.
 - Wegener N, Koch M (2009) Behavioural disturbances and altered Fos protein expression in adult rats after chronic pubertal cannabinoid treatment. *Brain Res* 1253: 81-91.
 - Wenger T, Gerendai I, Fezza F, González S, Bisogno T, Fernandez-Ruiz J, Di Marzo V (2002) The hypothalamic levels of the endocannabinoid, anandamide, peak immediately before the onset of puberty in female rats. *Life Sci* 70: 1407-1414.
 - Whitford TJ, Rennie CJ, Grieve SM, Clark CR, Gordon E, Williams LM (2007) Brain maturation in adolescence: concurrent changes in neuroanatomy and neurophysiology. *Hum Brain Mapp* 28: 228-237.
 - Wilcox HC, Anthony JC (2004) The development of suicide ideation and attempts: an epidemiologic study of first graders followed into young adulthood. *Drug Alcohol Depend* 7: S53-S67.
 - Yücel M, Solowij N, Respondek C, Whittle S, Fornito A, Pantelis C, Lubman DI (2008) Regional brain abnormalities associated with long-term heavy cannabis use. *Arch Gen Psychiatry* 65: 694-701.

