

EFFECTES DEL CONSUM DE CÀNNABIS EN EL CERVELL

Pseudònim: PACAFI

AGRAÏMENTS

Per començar, m'agradaria agrair la col·laboració de totes les persones que, d'una manera o altra han contribuït en la realització d'aquest treball. En primer lloc, vull agrair al meu tutor del Treball de Recerca per la seva orientació constant i la seva dedicació.

També agraeixo la col·laboració dels especialistes Arnau Busquets i Carla Ramon, no només per donar-me la possibilitat de treballar dins d'un laboratori professional, també per la seva ajuda tècnica, interès i implicació en tot moment, durant la meva estada a l'Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques i durant el desenvolupament del meu treball. Gràcies a ells he pogut entendre les parts més complexes dels diferents apartats.

Així mateix, vull agrair al psiquiatre Eduard Cama Bofill, i al doctor Arnau Busquets García per la seva participació i el temps dedicat a respondre les entrevistes. També, a tota la gent que ha participat en el meu treball de manera indirecta mitjançant l'enquesta.

Finalment, donar les gràcies a la meva família pel suport i acompanyament, en especial a la meva mare, que m'ha animat i aconsellat des del primer moment.

Hoy en día, el cannabis es la droga más consumida por la sociedad después del tabaco y el alcohol a nivel mundial. Por lo tanto, es de gran necesidad informar sobre los posibles efectos nocivos derivados de su consumo, especialmente durante la adolescencia. Los objetivos de este trabajo son el estudio de estos efectos, concretamente en el campo de la memoria y la conducta, así como conocer la relación del consumo con los trastornos mentales y las posibles aplicaciones médicas del cannabis.

Para ello, se han llevado a cabo una serie de experimentos con ratones adolescentes en el laboratorio del 'Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques', donde se ha podido comprobar que el consumo de THC, el principio activo de la planta, está relacionado con una pérdida de memoria - mayor en machos que en hembras - y una alteración de la conducta, que en el caso de los ratones se observa, principalmente, en un mayor tiempo de inmovilidad y menos ganas de investigar e intentar escapar, también mayor en machos.

Según los resultados obtenidos del análisis de una parte de tejido cerebral de los ratones, parece que las diferencias entre los efectos en machos y hembras podrían estar relacionados con una mayor disminución del receptor CB1 en el cerebro de las hembras, así como un aumento de la catalasa (enzima antioxidante), que indicaría que el THC activaría unas vías antioxidantes en hembras que no se activan en machos, lo que explicaría el déficit cognitivo presente en los machos.

Finalmente, también se ha realizado una encuesta a la población, en la cual más de la mitad de los encuestados afirman haber consumido cannabis alguna vez, de los cuales un 16% lo hace diariamente. Sin embargo, el 96% de la población, tanto jóvenes como adultos, es consciente de que su consumo prolongado y regular puede producir problemas a largo plazo como son algunos trastornos mentales o problemas cognitivos.

Nowadays, cannabis is the most consumed drug worldwide by society after tobacco and alcohol. Therefore, it is of great necessity to inform about the possible harmful effects derived from its consumption, especially during adolescence. The objectives of the project is to study these effects, specifically in the field of memory and behavior, as well as to know if there's a relationship between consumption and mental disorders together with the possible cannabis medical applications.

To do this, a few experiments have been carried out with adolescent mice in the 'Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques' laboratory, where I have been able to confirm that the THC, the main psychoactive of the plant, is related to a loss of memory - greater in males than in females - and an alteration in behavior, which in the case of mice is observed, mainly, in a higher immobility time and a less desire to investigate and trying to escape, also greater in males.

Based on the results obtained from the molecular analysis of the mice's hippocampus (brain tissue), it seems that the differences between the effects in males and females could be related to a greater decrease in the CB1 receptor in the females' brain, as well as an increase in the catalase (antioxidant enzyme), which would indicate that THC activates antioxidant pathways in females but not in males, which would explain the cognitive impairment that males presented. However, although these results are very interesting, a wider research is needed in order to reach a valid conclusion of these variations.

Finally, a survey has been made, in which more than a half of the participants claimed to have consumed cannabis at some time, even though the 96% are aware of the long-term problems, such as some mental disorders or cognitive problems that prolonged and regular cannabis consumption can cause.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	6
MARC TEÒRIC	9
1. QUÈ ÉS EL CÀNNABIS?	9
1.1 COMPOSICIÓ QUÍMICA	10
1.1.1 THC	11
1.1.2 CBD	14
2. EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE	16
2.1 ENDOCANNABINOIDES	18
2.2 RECEPTORS ENDOCANNABINOIDES CB1 I CB2	19
3. CÀNNABIS I MEMÒRIA	21
3.1 TIPUS DE MEMÒRIA	21
3.2 ESTUDIS SOBRE ELS EFECTES DEL CÀNNABIS EN LA MEMÒRIA	22
3.3 MODELS D'ESTUDI DE MEMÒRIA EN RATOLINS	23
4. CÀNNABIS I TRASTORNS MENTALS	25
5. CÀNNABIS MEDICINAL I POTENCIAL TERAPÈUTIC DELS CANNABINOIDES	27
5.1 FÀRMACS BASATS EN CANNABINOIDES	27
5.2 APLICACIONS MÈDIQUES DEL CÀNNABIS MEDICINAL	28
5.2.1 ONCOLOGIA	29
5.2.2 NEUROLOGIA	30
MARC PRÀCTIC	33
1. EXPERIMENT I: TÉ EFECTES EL THC EN LA MEMÒRIA DE RATOLINS ADOLESCENTS?	33
1.1 NOVEL OBJECT RECOGNITION TEST (NOR)	33
2. EXPERIMENT II: TÉ EFECTES EL THC EN EL COMPORTAMENT DE RATOLINS ADOLESCENTS?	37
3. EXPERIMENT III: S'OBSERVEN CANVIS AL TEIXIT CEREBRAL DELS RATOLINS DESPRÉS D'ADMINISTRAR THC?	40

3.1 ESTUDI D'EXPRESSION GÈNICA MITJANÇANT UNA QRT-PCR	40
3.2 PEROXIDACIÓ LIPÍDICA	43
4. INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS DELS EXPERIMENTS	45
5. ENQUESTA	46
5.1 ANÀLISI DE LA PERCEPCIÓ DE RISC	47
5.2 RELACIÓ ENTRE LA PRESENCIA DE PERSONES CONSUMIDORES A L'ENTORN I CONSUM DE CÀNNABIS	52
5.3 RELACIÓ AMB ELS EXPERIMENTS	53
5.4 PREGUNTES D'INTERÈS	55
6. ENTREVISTES A ESPECIALISTES	57
6.1 ENTREVISTA AL PSIQUIATRE EDUARD CAMA	57
6.2 ENTREVISTA AL DR. ARNAU BUSQUETS	59
CONCLUSIONS	61
WEBGRAFIA	64
ÍNDEX D'IMATGES	69
ANNEXOS	71
ANNEX I: PROTOCOL EXPERIMENT III - AÏLLAMENT ARN	71
ANNEX II: PROTOCOL EXPERIMENT III - KIT DE PEROXIDACIÓ LIPÍDICA	73
ANNEX III: ENTREVISTA A EDUARD CAMA	75
ANNEX IV: ENTREVISTA A ARNAU BUSQUETS	79
ANNEX V. TAULES DE RESULTATS	82

INTRODUCCIÓ

El títol del meu treball de recerca és “Efectes del consum de cànnabis en el cervell”. L'estudi es centra en conèixer com les substàncies psicotròpiques del cànnabis afecten a la fisiologia i el funcionament del cervell humà, especialment en la memòria i la conducta, tot i que també s'hi relacionen altres temes secundaris com la seva relació amb els trastorns mentals així com les seves possibles aplicacions mèdiques. El meu treball s'adscriu, doncs, a l'àmbit de les ciències empíriques, en concret a la recerca biomèdica.

Sempre m'ha costat prendre decisions, fins i tot les més insignificants com escollir un plat en un restaurant o quina roba em posaré. Sorprenentment, però, sempre he tingut clar que vull estudiar medicina i el meu objectiu és aconseguir ajudar a la gent algun dia treballant del que m'agrada. Per aquest motiu, a l'hora de triar un tema pel treball de recerca ja sabia més o menys cap a on enfocar-lo.

Les raons per les quals he triat aquest treball són les següents: en primer lloc, perquè, com he dit anteriorment, vull estudiar el grau de medicina en acabar el batxillerat i els continguts del treball tenen relació amb l'àmbit de les ciències de la salut. En segon lloc, perquè un amic de la família, el Dr. Arnau Busquets Garcia, és investigador del programa de neurociències de l'IMIM¹ i recordava que havia realitzat diversos estudis relacionats amb el cànnabis que m'havien resultat interessants. I, per últim, per adquirir i difondre coneixements sobre els efectes d'un hàbit bastant estès entre la població, especialment entre els joves de la meua edat.

Abans de triar aquest tema havia pensat en fer un treball més enfocat a la cirurgia, ja que és una especialitat que m'interessa especialment i m'hauria agradat tenir l'oportunitat d'entrar dins un quiròfan o fer alguna pràctica per l'estil. Finalment, vaig decidir descartar aquesta opció perquè per culpa de la situació que estem vivint actualment a causa de la pandèmia del Covid-19 vaig pensar que seria difícil poder anar a un hospital i em vaig decantar cap a la recerca biomèdica.

¹ Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM)

Els objectius del meu treball són els següents:

- Conèixer els diferents components del cànnabis i les raons per les quals afecta al nostre organisme.
- Estudi general dels efectes derivats del consum de cànnabis al cervell, i comprovació en el camp concret de la memòria i la conducta mitjançant experiments amb ratolins.
- Explicar la seva relació amb els trastorns mentals.
- Conèixer les possibles aplicacions mèdiques dels cànnabis.
- Analitzar la percepció de risc de la població sobre els efectes psicològics no desitjats del consum de cànnabis, així com mirar si existeix una relació entre la presència de persones consumidores a l'entorn i el consum de cànnabis mitjançant una enquesta.
- Fer una estada a l'IMIM per realitzar els experiments i saber com funciona i es treballa en un laboratori professional.

Per tal d'assolir aquests objectius, he utilitzat la metodologia detallada a continuació: per començar he fet una recerca bibliogràfica que m'ha servit per escollir quins aspectes volia incloure en aquest treball. He consultat diferents recursos, com ara pàgines web/vídeos de centres de recerca o de divulgació científica. Per altra banda, he contactat amb el Dr. Arnau Busquets Garcia que també m'ha ajudat a fixar els objectius del treball i m'ha facilitat informació sobre el tema, a més de l'oportunitat de poder fer la part pràctica als laboratoris de l'IMIM. A més, he entrevistat a persones expertes en el tema: el Dr. Arnau Busquets Garcia, investigador del Programa de Neurociències de l'IMIM i a Eduard Cama Bofill, psiquiatre de Palafrugell. Així mateix, he portat a terme una enquesta a la població amb l'objectiu de conèixer la percepció de risc envers els efectes del cànnabis segons l'edat i el nivell d'estudis i saber si hi ha una relació entre el consum d'aquesta droga i la presència de persones consumidores a l'entorn. Finalment, he visitat l'Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, on he realitzat experiments amb ratolins adolescents que m'han permès extreure conclusions sobre els efectes del principi actiu del cànnabis en comportament, així com l'efecte que això provoca en la seva memòria i teixit cerebral.

Pel que fa a l'estructura del treball, es pot dividir en dues parts: la primera part és un marc teòric sobre el tema, on s'explica des de què és el cànnabis fins a com afecta el seu consum al nostre organisme. Seguidament, hi ha una part pràctica, que consisteix principalment en

la realització de tres experiments a l'IMIM. Els dos primers consisteixen en un test de reconeixement d'objectes en ratolins adolescents i en l'observació de la diferència de comportament entre els ratolins tractats amb vehicle (solució control) i els tractats amb THC (principi actiu del cànnabis). El tercer experiment es centra en l'anàlisi d'una part de teixit cerebral dels ratolins estudiats per tal d'observar si hi ha algun canvi en els dos grups a nivell genètic. Per acabar, aquesta part també inclou la interpretació dels resultats obtinguts a partir de les enquestes a la població, a més de les dues entrevistes a professionals mencionades anteriorment.

En resum, l'interès i l'originalitat del meu projecte rau en el fet de voler conèixer exactament quines són les conseqüències del consum del cànnabis que, després del tabac i l'alcohol, és la droga que està més present a la nostra societat, així com la prevenció de l'ús d'aquesta substància, ja que la literatura científica que tracta els problemes que suposa el consum de cànnabis de forma rigorosa i objectiva és encara molt escassa. (Robles Orozco, 2000, 5)

MARC TEÒRIC

1. QUÈ ÉS EL CÀNNABIS?

El cànnabis, popularment conegut com a marihuana, és una planta originària d'Àsia pertanyent a la família *Cannabaceae*. Durant milers d'anys ha estat utilitzada per diverses cultures amb finalitats agrícoles, tèxtils, recreatives, medicinals i espirituals. (Wikipedia, la enciclopedia libre, 2021)



Figura 1. Fulla de cànnabis

Actualment és àmpliament coneguda pels seus efectes psicotròpics, com són els canvis temporals en la percepció, estat d'ànim, consciència i comportament, que són el que impulsa la gent a consumir-ne. És precisament per aquests efectes, que no només són perjudicials per a la salut del consumidor, sinó que també suposen un perill per la seguretat col·lectiva com és l'accidentalitat en la conducció de vehicles de motor, que el seu cultiu ha estat prohibit o regulat en molts països. (Wikipedia, la enciclopedia libre, 2021)

Tot i això, des de fa anys, el cànnabis s'ha convertit en la droga il·legal més consumida arreu del món, després del tabac i l'alcohol, i cal destacar la importància de la tolerància social existent envers aquesta substància com a un dels principals motius pels quals el seu consum es popularitza cada vegada més. (Robles Orozco, 2000, 5)

Segons dades compartides per l'Observatori Espanyol sobre Drogues, gairebé un de cada cinc espanyols l'ha provat alguna vegada i un 4,2% en el mes anterior a ser enquestats. Aquest hàbit està encara més estès entre la població jove, on els que declaren haver-la consumit durant l'últim any, representen una quarta part del total.

1.1 COMPOSICIÓ QUÍMICA

Cannabis sativa, és només una de les més de 250.000 espècies de plantes que hi ha aproximadament al món. Tot i això, té una composició química única. El cànnabis està format per més de 500 substàncies, de les quals unes 113 són cannabinoides, compostos químics que es troben exclusivament en aquesta planta i són els responsables dels seus efectes psicotròpics. (Guzmán, 2020)



Figura 2. Components principals del *cannabis sativa*

Entre aquests cannabinoides, destaquen el **Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC)**, que és el principal component psicoactiu² de la planta, i el **cannabidiol (CBD)**. A més, també conté altres cannabinoides com el cannabícol (CBN) o la tetrahidrocannabivarina (THCV), que també actuen sobre el sistema nerviós, i terpens, que són els responsables del gust i l'olor, tot i que també poden tenir alguna acció farmacològica. (Guzmán, 2020)

Tant el THC com el CBD, són produïts de forma àcida per la planta, de manera que, perquè aquests compostos químics siguin biològicament actius han de passar per un procés d'escalfament, com és evidentment fumar, perquè aquests passin de la forma àcida a la forma farmacològicament activa. (Guzmán, 2020)

² substància química que actua principalment sobre el sistema nerviós central, l'acció de la qual comporta canvis temporals sobre la percepció, l'estat d'ànim, l'estat de consciència i el comportament.

1.1.1 THC

El **Δ^9 -tetrahidrocannabinol o THC** és el component psicoactiu més abundant i potent de la planta. Va ser aïllat per primera vegada a mitjans dels anys seixanta per Raphael Mechoulam, Habib Edery i Yechiel Gaoni, de l'Institut Weizmann de Ciències (Israel) i gràcies a ells coneixem la seva estructura (figura 3) (Busquets, 2013).

El THC és un lípid, una molècula hidrofòbica i lipofílica, és a dir, poc soluble en dissolucions aquoses com el nostre cos, que està format per un 70% d'aigua, i soluble en dissolvents orgànics com ara l'alcohol i els olis. Per aquesta raó, a diferència de la majoria de fàrmacs, es manté dies o fins i tot setmanes dins del nostre organisme i es diposita a les zones més lipídiques del nostre cos: el teixit adipós i el cervell (Guzmán, 2019).

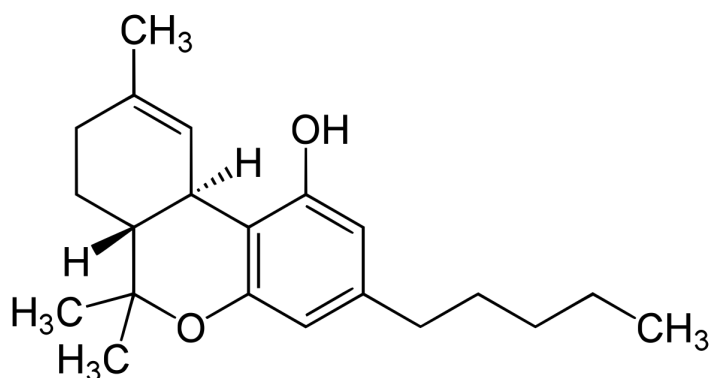


Figura 3. Estructura del Δ^9 -tetrahidrocannabinol

Quan es fuma cànnabis, el THC i altres substàncies químiques de la planta passen dels pulmons al torrent sanguini, que ràpidament les transporta a través del cos i al cervell, on mitjançant el sistema endocannabinoide, que explicaré més endavant, és capaç de modificar l'activitat normal de les cèl·lules (Guzmán, 2019).

Els principals efectes que provoca el THC al nostre organisme són els següents:

Aguts

- Sequedat de boca
- Irritació de les vies respiratòries i ocular
- Alteració de l'estat d'ànim i la consciència
- Alteració de la percepció del temps
- Major percepció sensorial
- Alteració de l'escorça orbitofrontal (regió del cervell que permet canviar el focus d'atenció)
- Alteració del cerebel i els ganglis basals (regions del cervell que regulen l'equilibri, la postura, la coordinació i el temps de reacció)
- Alteració de l'hipocamp (regió del cervell que ens permet dur a terme les activitats cognitives relacionades amb la memòria)
- Somnolència
- Increment de la gana
- Disminució del dolor
- Ansietat, paranoia
- Psicosi (al·lucinacions, deliri, pèrdua del sentit de la identitat personal) (poc comú)

A llarg termini

- Síndrome amotivacional
- Possibilitat d'addicció
- Problemes per dormir
- Major risc de tos crònica i bronquitis
- Deteriorament de la capacitat d'aprenentatge, la coordinació i la memòria amb la possible pèrdua de coeficient intel·lectual (especialment en persones que van començar el seu consum de forma excessiva durant l'adolescència).
- Major risc de patir altres trastorns per consum de drogues o alcohol
- Major risc d'esquizofrènia en persones amb predisposició genètica

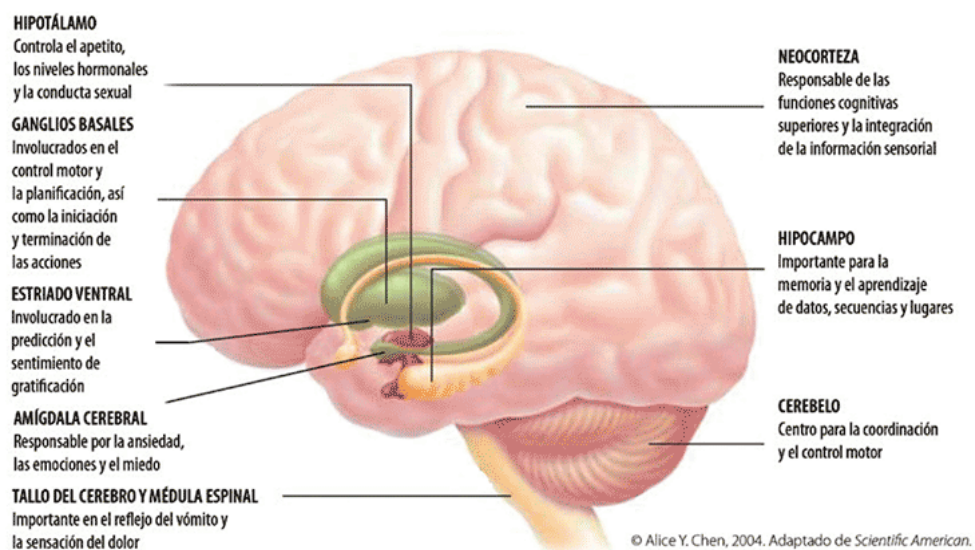


Figura 4. Parts del cervell afectades pel THC

Cal destacar que aquests efectes poden variar segons la persona. Els efectes poden ser diferents segons diversos factors com la freqüència de consum, l'edat d'inici, la concentració de THC i altres cannabinoides de la substància consumida, la via d'administració o si la persona no té experiència. A més, si en comptes de fumar el cànnabis s'ha ingerit o begut, els efectes apareixen més tard perquè les substàncies han de passar per l'aparell digestiu, però poden durar hores. (National Institute on Drug Abuse, 2020).

Per altra banda, tot i que igual que en la majoria de drogues s'allibera dopamina³, en comparació amb altres fàrmacs i substàncies d'abús, el THC presenta una capacitat més baixa de generar dependència, és a dir, la síndrome d'abstinència és molt més lleu i moderada que la de, per exemple, la nicotina o l'alcohol (Guzmán, 2019).

Per últim, a més de provocar la sensació d'embriaguesa a causa de la seva psicoactivitat, també és el responsable de diversos efectes terapèutics, com per exemple, la reducció de nàusees i vòmits, del dolor i dels espasmes musculars, i una millora en el somni i l'apetit. El THC és un potent analgèsic i antioxidant. (MEDCAN, n.d.)

³ substància química que produeix plaer i per tant ens motiva a seguir-ne consumint.

1.1.2 CBD

El **cannabidiol** o **CBD** és un cannabinoides que prové de la flor de la planta i que, a diferència del THC, no té efectes psicoactius sobre el nostre organisme, sinó que el que fa és atenuar i contrarestar els efectes del THC. Per exemple, el THC en dosis elevades pot provocar ansietat o psicosis i el CBD en canvi, és una substància ansiolítica i antipsicòtica.

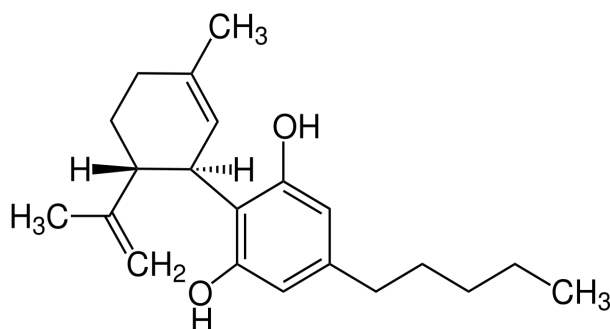


Figura 5. Estructura del cannabidiol

Per aquesta raó, les preparacions més recomanables i les que s'utilitzen, per tant, en l'àmbit medicinal, són aquelles que presenten un nivell moderat entre les dues substàncies de manera que el CBD modera els efectes psicoactius no desitjats del THC. Per contra, les preparacions més comunes en l'àmbit recreatiu contenen un nivell més elevat de THC i més pobre en CBD, ja que el que es busca és l'anomenat "colocón" (Guzmán, 2019).

Actualment, el CBD és el cannabinoides natural al qual se li reconeixen més efectes terapèutics, al tractar-se d'una substància no psicoactiva, el CBD és una substància segura i no addictiva i el seu consum és totalment legal. (MEDCAN, n.d.)

En particular, el CBD té un rol fonamental en la regulació i la modulació dels processos inflamatoris i de recuperació funcional, a més de facilitar la relaxació física i mental (Schwertschlag, 2020).

Principals propietats terapèutiques:

- Antiinflamatori
- Antipsicòtic
- Antibacterià
- Antioxidant
- Analgèsic
- Neuroprotector
- Ansiolític
- Anticonvulsiu
- Antitumoral



Figura 6. Ús tòpic del CBD

Els dos formats més estesos de l'ús de CBD són:

- **Ús tòpic.** El CBD s'utilitza en bàlsams, unguents, olis i cremes. Tenim molts receptors de CBD a la nostra pell, músculs i articulacions. Per aquesta raó, aplicar CBD a les zones afectades per inflamació i afliccions com vermellors, acne, èczemes o psoriasis és útil per regular la producció i reparació de cèl·lules de la pell i calmar les afliccions (Schwertschlag, 2020).
- **Ús sublingual.** Aquest ús actua de forma global en el nostre cos a través dels vasos sanguinis de la mucosa de la boca. Es solen aplicar unes gotes d'oli de CBD o productes similars com pastilles bucodispersables i el seu ús està més encarat a mitigar problemes com l'insomni o l'ansietat (Schwertschlag, 2020).

2. EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El sistema endocannabinoide o ECS (Endocannabinoid System) és un sistema de comunicació entre cèl·lules que tenen la gran majoria d'animals, incloent-hi els humans. Es podria dir que és un sistema de neurotransmissió, tot i que és molt més que això, ja que no només es troba al cervell, també es troba en altres òrgans i teixits del cos. Per aquesta raó, aquest sistema no es limita a una funció fisiològica específica, sinó que s'encarrega de mantenir l'equilibri homeostàtic⁴ i els processos metabòlics de l'organisme, influint en gairebé tots els altres sistemes del cos i modificant el seu funcionament (Schwertschlag, 2020) (Kalapa Clinic, n.d.).

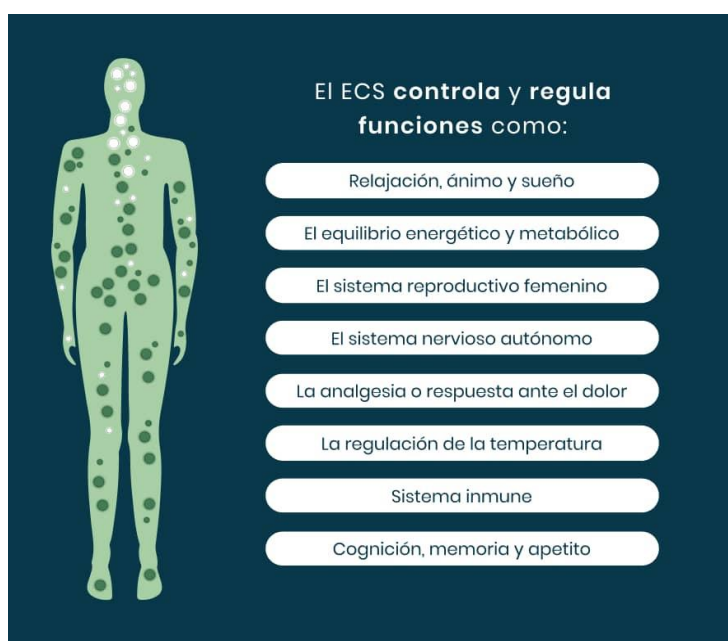


Figura 7. Funcions del sistema endocannabinoide

Aquest sistema es va descobrir fa relativament poc, durant els anys 90, a través d'un estudi de fitocannabinoides com el THC i el CBD, mitjançant el qual es van trobar receptors cannabinoides al nostre cos. Més tard, al 1992, aquest fet va ajudar a identificar el primer cannabinoide produït per l'organisme de forma natural, l'anandamida, revelant l'existència de l'ECS (Schwertschlag, 2020).

⁴ manteniment d'unes condicions internes estables (ph, temperatura, accessibilitat de nutrients,...) envers el medi extern.

El sistema endocannabinoide està format per:

- **Endocannabinoides** → cannabinoides neurotransmissors que produeix el nostre cos de forma natural per transmetre informació.
- **Receptors cannabinoides** → Proteïnes activades per endocannabinoides/fitocannabinoides, dels quals reben i transmeten informació.
- **Enzims cannabinoides** → enzims que sintetitzen i descomponen els cannabinoides

Podríem dir que els receptors cannabinoides i els endocannabinoides interaccionen de la mateixa manera que ho fan un pany i la clau durant el procés sinàptic, mitjançant el qual les neurones envien senyals i transmeten informació (Figura 8).

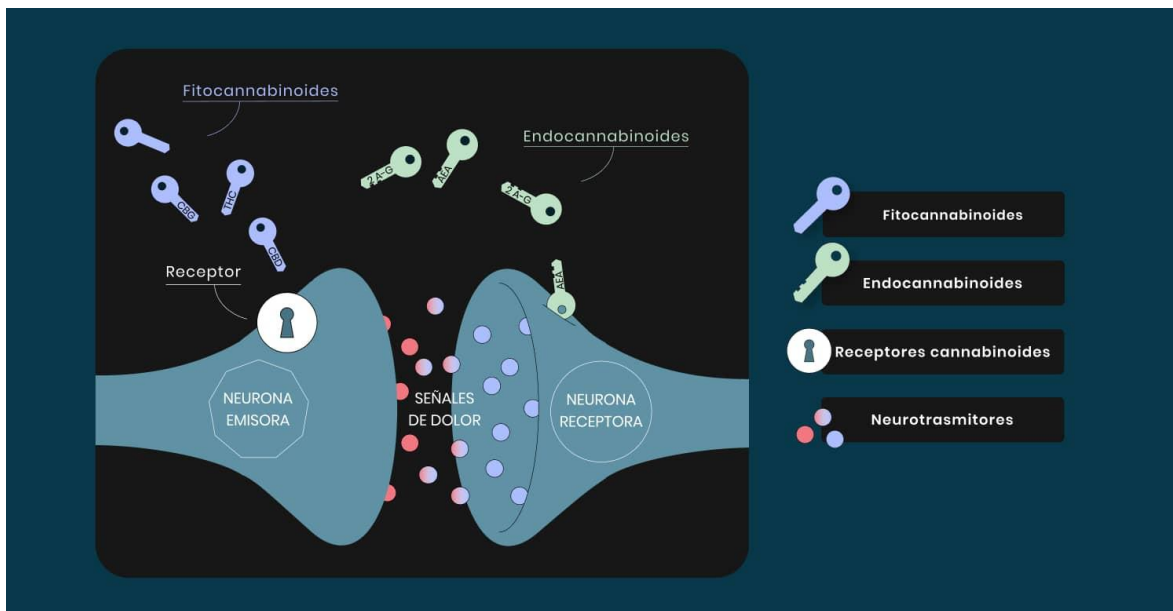


Figura 8. Funcionament del sistema endocannabinoide

El cànnabis afecta al nostre organisme a causa d'aquest sistema, que es veu afectat per la presència de fitocannabinoides que, degut al mimetisme molecular, encaixen dins els receptors cannabinoides com una falsa clau, produint efectes similars als dels endocannabinoides generats pel propi cos (Schwertschlag, 2020).

2.1 ENDOCANNABINOIDES

Els endocannabinoides, com he mencionat anteriorment, són els cannabinoides que sintetitza el nostre organisme de manera natural. Els dos endocannabinoides principals són **l'anandamida (AEA)** i el **2-araquidonilglicerol (2-AG)** (National Institute on Drug Abuse, 2021).

Aquestes molècules actuen com a neurotransmissors, enviant missatges químics entre les cèl·lules nervioses (neurones), i afecten les regions del cervell que influeixen en el plaer, la memòria, el pensament, la concentració, el moviment, la coordinació i la percepció del temps i l'espai. Es produeixen quan les neurones les necessiten. Per exemple, si després d'una lesió al cap apareix dolor neuropàtic, els endocannabinoides són secretats al medi extracel·lular per actuar sobre els receptors cannabinoides i així disminuir el dolor i reduir la mort cel·lular. El THC i el CBD actuen en els mateixos processos que controlen els endocannabinoides de manera natural (Hemps Pharma, n.d.).

Degut a l'existència d'aquests endocannabinoides, els fitocannabinoides del cànnabis són capaços de modificar el funcionament de les cèl·lules. L'estructura química del THC, per exemple, és similar a la de l'anandamida, i aquesta similitud fa que l'organisme reconegui el THC, que s'adhereix als receptors cannabinoides de les neurones i altera la comunicació normal del cervell (National Institute on Drug Abuse, 2021).

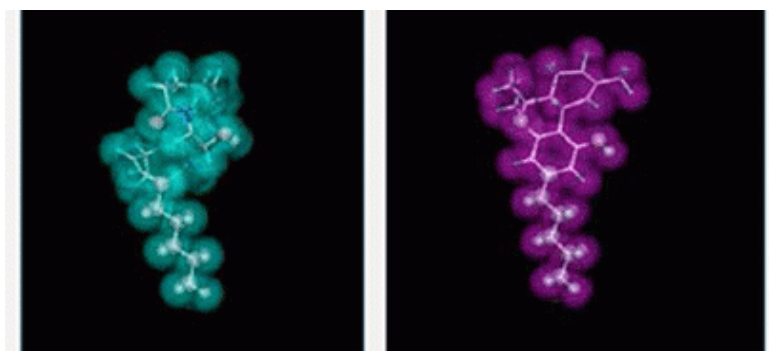


Figura 9. Similitud entre estructures d'anandamida (1) i THC (2)

2.2 RECEPTORS ENDOCANNABINOIDES CB1 I CB2

Moltes cèl·lules del nostre organisme, especialment les del sistema nerviós (neurones), tenen unes molècules específiques anomenades receptors cannabinoïdes a la seva superfície. Tots aquests receptors són proteïnes transmembrana, capaces de captar els cannabinoïdes del medi extracel·lular i generar una resposta dins la cèl·lula, activant o inhibint la seva activitat. Depenent del tipus de cèl·lula, la dosi i la situació en la que es troba el cos, els cannabinoïdes produeixen diferents canvis dins les cèl·lules que desemboquen en les accions finals de l'ECS sobre els processos fisiològics del cos (Fundación CANNA).

Els dos principals receptors que componen el sistema endocannabinoide són els receptors cannabinoïdes CB1 i CB2.

- **Receptors CB1.** Es troben sobretot en el sistema nerviós central i són especialment abundants al cervell, a les àrees següents:
 1. Hipotàlem → gana i temperatura
 2. Hipocamp → aprenentatge, memòria i estrès
 3. Medul·la → nàusees
 4. Escorça cerebral → funció cerebral (pensament, consciència, percepció...)
 5. Ganglis basals → Moviment
 6. Cerebel → Coordinació motora
 7. Medul·la espinal → Sensació perifèrica i dolor

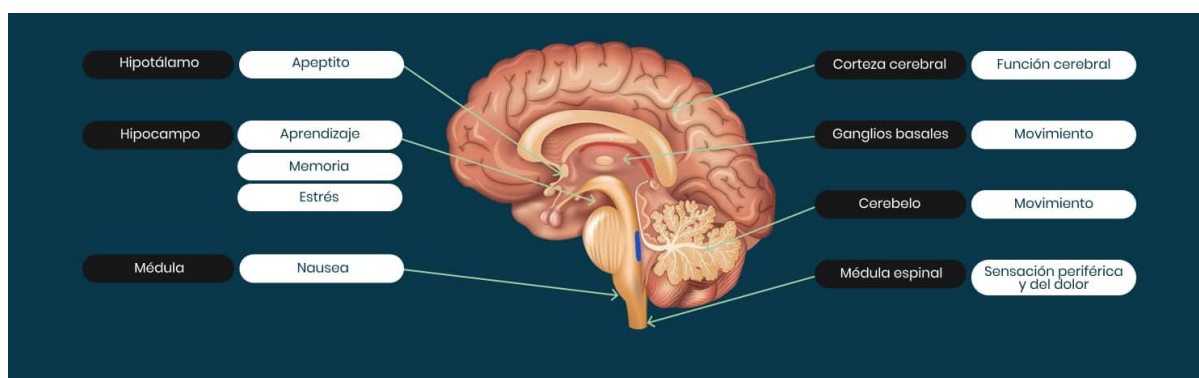


Figura 10. Parts del cervell amb receptors CB1

Aquest receptor també regula el creixement de les cèl·lules cerebrals i la migració de cèl·lules mare i és el responsable de la immensa majoria de les accions farmacològiques del THC al nostre organisme (Hemps Pharma, n.d.).

- **Receptors CB2.** Estan situats principalment al sistema nerviós perifèric i al sistema immunitari, però també es troben a l'intestí, el braç, el fetge, el cor, els ronyons, els ossos, els vasos sanguinis, les cèl·lules limfàtiques, les glàndules endocrines i els òrgans reproductors.

Aquest receptor està especialment vinculat amb el CBD i és el responsable dels efectes immunomoduladors del cànnabis (Hemps Pharma, n.d.).

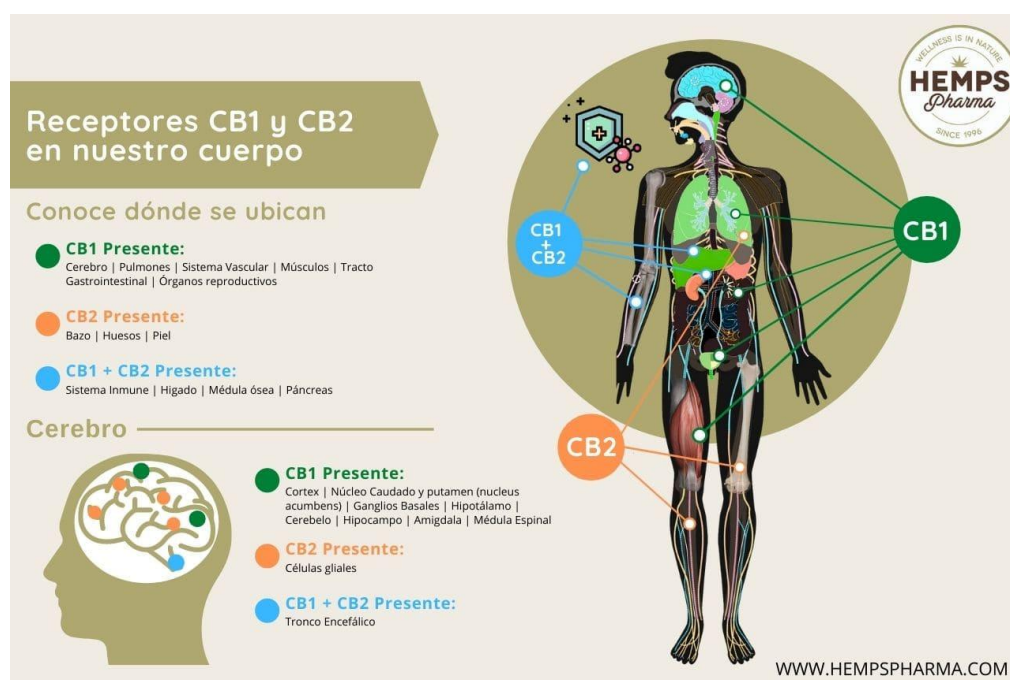


Figura 11. Ubicació dels receptors CB1 i CB2 a l'organisme

En definitiva, els receptors CB1 regulen la psicoactivitat, mentre que els receptors CB2 s'encarreguen de la resposta immune, el dolor i la inflamació.

3. CÀNNABIS I MEMÒRIA

3.1 TIPUS DE MEMÒRIA

“La memòria és la facultat de l'organisme de recuperar informació prèviament emmagatzemada a partir de les dades de l'experiència, la capacitat de tenir records a partir de la sinapsi de les neurones” (Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure, 2021).

Existeixen diferents tipus de memòria (García-Allen, n.d.) (Busquets, 2013):

Segons la durada:

- **Memòria a curt termini** (de minuts a dies en humans i de minuts a 3-4 hores en rosegadors).
- **Memòria a llarg termini** (de dies a anys en humans i d'hores a dies en rosegadors).

Segons la informació que s'obté:

- **Memòria declarativa o explícita.** Està associada a la consciència o, almenys, a la percepció conscient i s'adquireix amb poques exposicions al material a aprendre.
 1. **Memòria episòdica.** Fa referència als esdeveniments personals, com per exemple el primer dia a l'escola o el nostre divuitè aniversari.
 2. **Memòria semàntica.** Són els coneixements sobre el món exterior (històrics, geogràfics i científics), els noms de les persones i les coses, i el seu significat, que hem anat aprenent al llarg de la nostra vida. Aquest tipus de memòria és necessària per a l'ús del llenguatge.
- **Memòria no declarativa o implícita.** Aquest tipus de memòria s'emmagatzema de forma inconscient, és més complexa i implica diferents àrees cerebrals.
 1. **Memòria procedimental.** Permet recordar com realitzar accions com anar en bicicleta o conduir un cotxe.

L'hipocamp és el component principal del cervell dels vertebrats implicat en la formació de la memòria. Té un paper clau en la consolidació de la informació, especialment en la memòria declarativa.

3.2 ESTUDIS SOBRE ELS EFECTES DEL CÀNNABIS EN LA MEMÒRIA

“El declivi cognitiu després del consum de marihuana es coneix des de fa dècades en humans i s’ha demostrat un deteriorament cognitiu similar en animals de laboratori (...) Aquest deteriorament està relacionat amb la dosi i el temps de consum, i empitjora amb l’augment dels anys de consum regular de cànnabis” (Busquets, 2013).

Per una banda, el consum de cànnabis afecta a la memòria a curt termini, sobretot si es consumeix una preparació rica en THC. L’afectació d’aquest tipus de memòria suposa l’alteració de les nostres capacitats cognitives⁵ de manera temporal. A més, també afecta la memòria visual, espacial i verbal, com per exemple recordar detalls del lloc on estem o tenir dificultats per pronunciar o recordar paraules (García-Allen, n.d.).

D’altra banda, mitjançant investigacions amb animals i un nombre creixent d’estudis amb éssers humans, s’ha demostrat que el consum de cànnabis durant el desenvolupament pot causar efectes perjudicials al cervell a llarg termini, o fins i tot canvis permanents (National Institute on Drug Abuse, 2020).

En el cas de la memòria, les rates exposades al THC abans de néixer, al cap de poc temps d’haver nascut o durant l’adolescència, van tenir problemes notables a l’hora d’acomplir tasques específiques d’aprenentatge i memòria quan van ser més grans. Aquest deteriorament cognitiu present a les rates adultes està associat amb canvis estructurals i funcionals a l’hipocamp deguts a la alta presència de receptors cannabinoides durant l’adolescència que fan que el THC alteri la forma en la qual aquest processa la informació. (National Institute on Drug Abuse, 2020).

⁵ “S’anomena cognició a la capacitat de pensar i raonar. S’inclouen en la cognició la capacitat per a rebre, recordar, comprendre, organitzar i utilitzar la informació recollida pels sentits. Per tot això, els aspectes cognitius inclouen la memòria, l’atenció, la percepció, l’acció, i l’habilitat per a resoldre problemes” (Farré & Abanades, n.d., 93)

A més, a mesura que les persones es fan grans perden neurones a l'hipocamp, el que fa que disminueixi la seva capacitat d'aprendre informació nova, però l'exposició crònica al THC pot accelerar la pèrdua d'aquestes neurones (National Institute on Drug Abuse, 2020).

Els estudis amb rates també demostren que l'exposició al THC durant l'adolescència està associada amb l'alteració del sistema de recompensa, el que augmenta la probabilitat que un animal s'autoadministri altres drogues quan té l'oportunitat de fer-ho (National Institute on Drug Abuse, 2020).

3.3 MODELS D'ESTUDI DE MEMÒRIA EN RATOLINS

La memòria és una funció àmpliament estudiada en models animals. El ratolí de laboratori és un dels animals més utilitzats en la investigació científica, no només pel seu fàcil maneig i l'alt nombre de cries que produeixen, especialment perquè al ser mamífers euteris, tenen un sistema immunitari i un genoma molt similar al dels éssers humans (Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure, 2021).

La semblança genètica entre les dues espècies permet comparar els gens dels ratolins amb els dels humans gairebé directament, fet que ajuda a entendre com funcionen les malalties humanes i en aquest cas els efectes que produeix el consum de cànnabis. Només d'aquesta manera es poden fer investigacions més fiables, ja que la investigació amb humans estaria per fora de les normes bioètiques (Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure, 2021).

La memòria s'avalua amb diferents laberints i horaris d'entrenament, des d'una única sessió fins a tasques d'aprenentatge més complexes. Alguns dels models que s'utilitzen per avaluar el rendiment de la memòria són els següents (Busquets, 2013):

- **Laberint d'aigua de Morris.** Els animals naden en una piscina plena d'aigua que conté una petita plataforma submergida just per sota de la superfície de l'aigua. Aquesta plataforma permet als animals sortir de l'aigua i estar drets sense l'estrès que suposa nadar. Els animals s'entrenen durant uns quants dies i després se'ls realitza la prova,

que consisteix en recordar la ubicació de la plataforma de sortida utilitzant senyals visuals de l'àrea de proves, on el temps/longitud que necessiten per trobar-la és l'índex d'aprenentatge.

- **Prova de reconeixement d'objectes.** Aquesta prova es basa en la tendència innata a explorar la novetat. Els animals poden explorar lliurement dos objectes en un laberint durant una sessió d'entrenament. Durant la prova, es canvia un dels objectes coneguts per un objecte nou. Tot seguit es calcula un índex de discriminació: com més temps passen explorant l'objecte nou, més gran és aquest índex i més bona és la memòria. Aquesta prova també es pot realitzar substituint els objectes per altres animals (prova de reconeixement social).
- **Laberint radial.** En aquesta prova s'utilitza un laberint amb diversos braços (normalment vuit), alguns dels quals tenen menjar al final i altres no. Els animals (amb gana) s'introdueixen al laberint per buscar menjar, on alguns dels braços poden estar bloquejats.
- **Aversió gustativa condicionada.** Els animals associen una font d'aliment amb malestar generalment induït per la injecció de clorur de liti. Com a índex de memòria s'utilitza l'evitació dels aliments prèviament associats al malestar.
- **Evitació inhibidora.** L'aparell que s'utilitza té unes reixes metàl·liques al terra que poden provocar una petita descàrrega. Durant l'entrenament, els animals es col·loquen a sobre una plataforma segura situada a sobre la reixa i quan descendeixen voluntàriament cap a ella reben automàticament una petita descàrrega. Mesurar el temps que passen els animals a la plataforma abans de baixar avalua la memòria.

4. CÀNNABIS I TRASTORNS MENTALS

Diverses investigacions científiques demostren que el consum prolongat de cànnabis té conseqüències nocives en la salut mental i relacionen el seu consum amb un major risc de patir trastorns psiquiàtrics com els següents: (Amelunge, 2017, 45)

- Psicosi breu induïda per marihuana
- Esquizofrènia
- Depressió
- Trastorns d'ansietat
- Alteracions en la conducta

S'ha comprovat que la quantitat de droga que es consumeix, l'edat d'inici al consum i la predisposició genètica al trastorn són factors que influeixen en aquesta relació. Per exemple, estudis recents han descobert que les persones adolescents que consumeixen marihuana i tenen una variant específica del gen *AKT1* tenen 7 vegades més probabilitats de patir psicosis durant l'etapa adulta que les persones que no en consumeixen. (National Institute on Drug Abuse, 2020)

L'Organització Mundial de la Salut, declara que el consum persistent de cànnabis, especialment en consumidors amb predisposició per dependre de la droga i/o per l'esquizofrènia i quan es comença a consumir abans dels 18 anys, resulta en esquizofrènies on el primer episodi apareix al cap d'un any de consum. A més, també fa que aparegui una pitjor resposta als antipsicòtics, augmenta el nombre de recaigudes en els següents 15 anys i agreuja l'evolució de la malaltia. (Quiroga, 2000, 143)

L'any 2018, científics de la Universitat de Granada (UGR) van dur a terme una investigació, liderada pel catedràtic de Psiquiatria Jorge Cervilla, mitjançant la qual van demostrar per primera vegada que el cànnabis no només pot provocar esquizofrènia, sinó tota mena de trastorns mentals en general. (ABC, 2018)

Es tracta d'un estudi epidemiològic - 'Estudi Granadep'- realitzat a 1.200 persones de la província de Granada i publicat a la prestigiosa revista americana 'Journal of Nervous and Mental Disease'. En aquest estudi, es va trobar una prevalença de trastorn mental de l'11% dels enquestats, on els trastorns més freqüents són els d'**ansietat** (9%) i **depressió** (8%) que, a més, acostumen a coincidir en la mateixa persona. L'estudi també demostra que l'1,8% de la població pateix un trastorn addictiu, el 2% va presentar un trastorn psicòtic, i un 3,6% un trastorn de la personalitat. (ABC, 2018)

Pel que fa a la conducta, un seguiment realitzat a un grup de consumidors de THC des de l'inici de l'adolescència va demostrar que 5 anys després tenien més tendència a abandonar els estudis, a no percebre el perill envers altres drogues, a menysprear l'ús de preservatius durant les relacions sexuals (increment del risc de patir SIDA, entre altres malalties de transmissió sexual), i a involucrar-se en activitats delictives. La conducta agressiva, tot i que en consumidors crònics augmenta des del tercer dia fins 28 dies després d'eliminar la substància, està més relacionada amb els símptomes d'abstinència. (Quiroga, 2000, 142)

5. CÀNNABIS MEDICINAL I POTENCIAL TERAPÈUTIC DELS CANNABINOIDES

“La modulació de l’activitat del sistema endocannabinoide pot tenir un potencial terapèutic en gairebé totes les malalties que afecten als humans” (Raphael Mechoulam)

5.1 FÀRMACS BASATS EN CANNABINOIDES

La farmacologia clàssica, el que fa és intentar trobar els principis actius, purificar-los i després fer-ne derivats químics i aquest és precisament el camí que va seguir el cànnabis.

Després de descobrir quins eren els principis actius de la planta a mitjans dels anys 60, es van començar a fer estudis clínics que van donar lloc a l’aprovació dels primers medicaments elaborats a base de THC per l’Administració d’Aliments i Fàrmacs d’Estats Units (*U.S. Food and Drug Administration, FDA*) als anys 80: el **Marinol** i el **Cesamet**. (Guzmán, 2020)



Figura 12. *Marinol*

L’avantatge que tenen aquest tipus de fàrmacs és que és més fàcil preveure els efectes que tindrà un **compost pur** que, per exemple, quins efectes tindrà el consum de 150 cannabinoïdes, terpens i altres substàncies que conté la planta de cànnabis. A més, per entrar en assajos clínics normalment només són acceptats principis purs. Malgrat aquest punt a favor, en tenir només THC, aquests fàrmacs no eren molt ben tolerats, ja que els pacients que els prenien tenien efectes psicoactius no desitjats a més dels terapèutics, per la qual cosa la seva utilització va resultar ser molt restringida. (Guzmán, 2020)

Més endavant, van aparèixer **compostos químics més complexos** que van passar a incloure, principalment, el CBD, entre els quals destaca el **Sativex**, un atomitzador bucal. Aquests compostos, en tenir CBD que atenua alguns dels efectes secundaris no desitjats generats pel THC, són més ben tolerats pels pacients. (I.U. Investigación en Neuroquímica, 2019)

Avui en dia, però, sabem que aquest tipus de fàrmacs tampoc cobreixen les necessitats de tots els pacients perquè la seva única via d'administració és lenta i, per exemple, no permet actuar sobre els brots d'espasticitat de forma ràpida, sinó que tarden hores a fer efecte. A més, no permeten modificar la dosi de THC/CBD si és necessari perquè tenen una composició fixa i acostumen a causar problemes a l'hora de dormir. (Guzmán, 2020)

Per aquesta raó, en alguns països com Canadà també hi ha l'opció d'utilitzar preparats crus de la planta, és a dir, cànnabis vaporitzat o en oli, que tot i que són difícils d'entrar en assajos clínics controlats, són més adaptables a les necessitats particulars dels pacients i el cost econòmic és menor. (Guzmán, 2020)

En general, els investigadors consideren que els medicaments com els anomenats anteriorment, generats a partir de substàncies químiques purificades de la planta, són més esperançadors des del punt de vista terapèutic que l'ús de la planta de cànnabis sencera o dels seus extractes crus. El fet d'utilitzar compostos purs permet controlar exactament quina quantitat del principi actiu volem que rebi el pacient, entre altres coses. (NIDA, 2020)

5.2 APLICACIONS MÈDIQUES DEL CÀNNABIS MEDICINAL

La investigació sobre els cannabinoides deriva en gran part de les expectatives que s'han creat entorn a les possibles aplicacions terapèutiques d'aquestes substàncies i fins i tot s'han realitzat diversos assajos clínics per comprovar l'eficàcia dels fàrmacs cannabinoides. Aquestes investigacions han revelat que, gràcies a la manipulació farmacològica del sistema endocannabinoide, es poden proporcionar efectes beneficiosos en diverses patologies, algunes d'elles sense tractaments farmacològics eficaços fins al moment. (Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides)

Existeixen estudis sobre les propietats terapèutiques dels cannabinoides en diversos camps, des de malalties gastrointestinals, malalties musculoesquelètiques o fins i tot en malalties dermatològiques. Tot i això, els dos camps més destacats en la investigació de tractaments amb cannabinoides són la neurologia i l'oncologia. (Guzmán, 2020)

5.2.1 ONCOLOGIA

Per una banda, en el camp de l'oncologia, els cannabinoides s'utilitzen principalment per inhibir el dolor, les nàusees i els vòmits causats per quimioteràpies, i també per estimular la gana en els casos d'anorèxia-caquèxia de càncers o sida. (Guzmán, 2020)

Pel que fa al tractament oncològic en si, és a dir, per eliminar cèl·lules tumorals, els assajos clínics en humans encara són preliminars. Tot i això, investigacions realitzades durant els últims 15-20 anys demostren que alguns cannabinoides, especialment el THC, tenen activitat antitumoral en models animals, on poden reduir o fins i tot eliminar diversos tipus de tumors (melanoma, glioma, etc.), sobretot si es combina amb altres tractaments. (Velasco, n.d.)

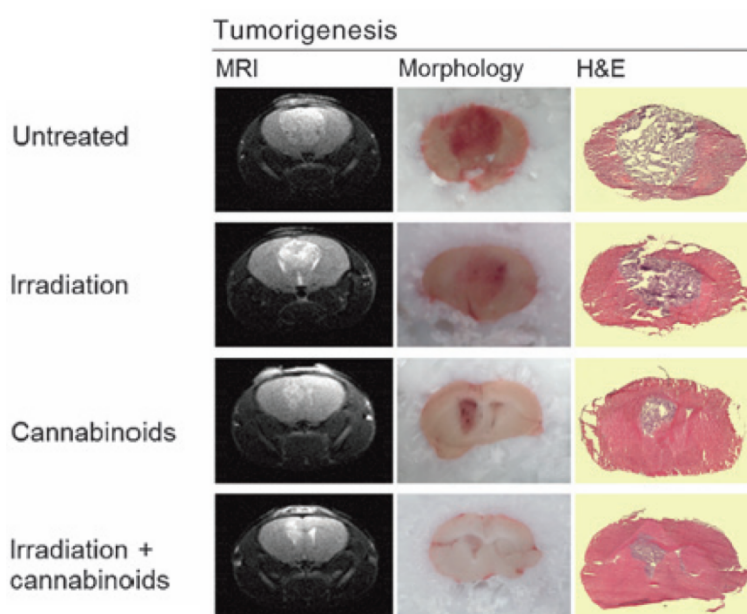


Figura 13. Presència tumoral al cervell d'un ratolí. Les columnes indiquen el mètode d'anàlisi (ressonància magnètica, morfològicament i mitjançant la tinció d'hematoxilina-eosina) i les files el tractament del càncer (sense tractar, tractat amb irradiació, tractat amb cannabinoides i la teràpia combinada d'irradiació i cannabinoides)

5.2.2 NEUROLOGIA

Per altra banda, també s'han fet molts estudis sobre els possibles beneficis que els cannabinoides poden aportar en el camp de la neurologia.

- **MALALTIES NEURODEGENERATIVES**

Actualment s'està estudiant els efectes dels cannabinoides en les malalties neurodegeneratives, aquelles en les que, per una sèrie de factors, hi ha parts del cervell on comencen a morir neurones. En el nostre cervell tenim els anomenats nínxols neurogènics, zones capaces de produir noves neurones, fet que es podria estimular farmacològicament davant d'una malaltia neurodegenerativa i es sap que els cannabinoides, en models experimentals molt bàsics en animals de laboratori, són capaços de fer-ho. (I.U. Investigación en Neuroquímica, 2019).

Les investigacions amb cannabinoides en aquestes malalties es centren en les malalties neurodegeneratives progressives, les malalties cròniques com **l'alzheimer**, el **Parkinson** o **l'esclerosi lateral amiotròfica**. (I.U. Investigación en Neuroquímica, 2019)

- **ESCLEROSI MÚLTIPLE**

El sistema cannabinoide té un paper molt important pel que fa al to muscular.

Els pacients amb esclerosi múltiple, degut a una alteració de l'ECS, tenen molta més espasticitat (més rigidesa i poca relaxació) i dolor neuropàtic. Un dels medicaments que s'utilitza com a analgèsic i antiespàstic en aquests casos és el **Sativex**.

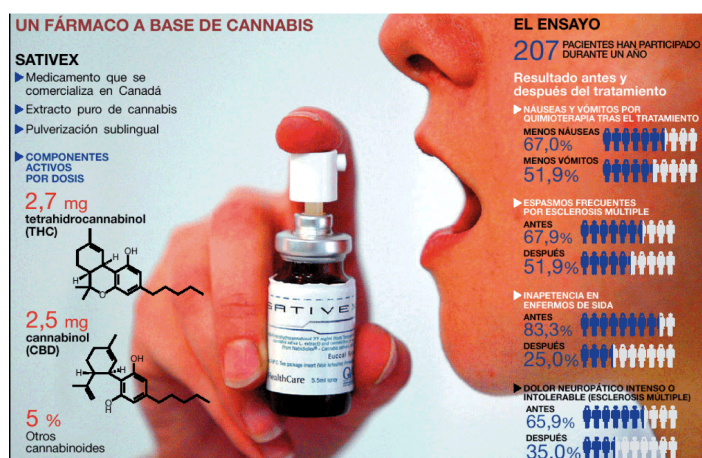


Figura 14. Sativex, components i resultats assaig clínic

- **ENCEFALOPATIES**

En el cas de les encefalopaties (dany cerebral), existeixen les que es produeixen per falta de reg, les anomenades isquèmies o ictus, i les encefalopaties epileptiformes, relacionades amb malalties que tenen associada epilèpsia. En aquests casos s'aprofita la propietat neuroprotectora dels cannabinoides, en especial el CBD i als Estats Units s'està provant un medicament líquid a base de CBD anomenat **Epidiolex** pel tractament de dues formes greus d'epilèpsia infantil: la síndrome de Dravet i la síndrome de Lennox-Gastaut. (NIDA, 2020) (I.U. Investigación en Neuroquímica, 2019)

En conclusió, tot i que moltes de les possibles aplicacions terapèutiques del cànnabis medicinal encara s'estan investigant, els cannabinoides poden ser de gran utilitat en pacients amb malalties neurològiques o càncer. A més, també són útils en pacients que no responen bé als fàrmacs estàndard o en pacients crònics que estan debilitats pel fet que han de prendre medicació molt variada. En aquests casos, els cannabinoides ajuden a millorar la qualitat de vida del pacient, ja que amb un sol tipus de medicació s'aconsegueix una suma de diversos efectes terapèutics que, malgrat tenir una potència d'acció menor que els altres fàrmacs per separat, acaben essent una opció més segura i beneficiosa. (Guzmán, 2019)

Pel que fa al cànnabis dins la política de drogues, tot i que el consum d'aquesta droga amb finalitat recreativa continua prohibit, recentment l'ONU ha reconegut les propietats medicinals del cànnabis i ha eliminat aquesta planta de la classificació de les drogues més perilloses (llista IV), fet que limitava molt la seva investigació, ja que havia d'estar sota control estricte, com per exemple l'heroïna. (CCMA, 2020)

Aquest canvi, considerat un dels canvis més destacats en política de drogues de les últimes dècades, facilitarà considerablement la investigació mèdica amb cànnabis i una cinquantena de països ja han començat programes de cànnabis medicinal. (CCMA, 2020)

L'aprovació s'ha fet a la Comissió d'Estupefaents, dos anys després de que un dictamen de l'ONU reconeixia la utilitat mèdica i recomanava treure el cànnabis de la llista IV i mantenir-lo només a la llista I, on s'hi inclouen substàncies sota control, però amb propietats terapèutiques, com la morfina. (CCMA, 2020)

Tot i que tots els estats de la Unió Europea - excepte Hongria - i altres com Argentina, Canadà, Colòmbia i els Estats Units s'han sumat per aprovar el canvi, la major part dels països d'Àsia i Àfrica, i d'altres com Veneçuela i Cuba, han votat en contra perquè consideren que banalitza el consum de cànnabis i minimitza els danys per a la salut que produeix, com un increment de determinats trastorns mentals. (CCMA, 2020)

MARC PRÀCTIC

La part pràctica d'aquest treball de recerca consta de dues parts. D'una banda, la realització de 3 experiments a l'Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM) amb la col·laboració de la Carla Ramon i l'Arnau Busquets, investigadors de l'IMIM. D'altra banda, la interpretació dels resultats obtinguts a partir d'una enquesta realitzada a la població i les entrevistes a especialistes.

1. EXPERIMENT I: TÉ EFECTES EL THC EN LA MEMÒRIA DE RATOLINS ADOLESCENTS?

L'experiment I es basa en la pregunta següent: **Té efectes el consum de THC en la memòria de ratolins adolescents?**

1.1 NOVEL OBJECT RECOGNITION TEST (NOR)

Entre els diferents mètodes d'estudi de la memòria descrits anteriorment, he utilitzat el test de reconeixement d'objectes per a la realització d'aquest primer experiment, també anomenat *Novel Object Recognition Test* (NOR), descrit per primera vegada per Ennaceur i Delacour l'any 1988 i dissenyat per avaluar la memòria episòdica (declarativa). (Busquets, 2013)

Aquest experiment es basa en la tendència innata que tenen els animals a explorar el que és nou. Aquesta tendència també la tenim els humans i un clar exemple són els nadons. Quan un nadó fa temps que juga amb una joguina en concret i de sobte li regalen una de nova, passarà molt més temps jugant amb la nova que amb la vella. De la mateixa manera, quan els ratolins estan exposats a un objecte familiar i un de nou, dedicaran més temps a explorar el nou perquè són capaços de recordar l'altre. Tanmateix, passa el mateix amb els ratolins tractats amb THC?

La prova es realitza en 3 dies i consta de tres fases: l'habituaçió, la familiarització i la prova.

- Durant la primera fase, es deixa que l'animal explori lliurement el laberint en forma de L sense cap objecte.
- A la segona fase, es col·loquen dos objectes idèntics a cada banda del laberint i es deixa que el ratolí els investigui durant uns minuts. En acabar aquesta fase, es tracta una part dels animals amb la substància que s'està estudiant, en aquest cas amb THC, i els altres amb una solució control.
- Finalment, durant la prova, es torna a introduir el ratolí dins el laberint, aquesta vegada amb un objecte idèntic al de la fase d'entrenament a una banda i un altre de completament nou a l'altre.



Figura 15. Prova de reconeixement d'objectes.

Aquesta prova l'he realitzat a 24 ratolins d'un mes d'edat (adolescents); 12 mascles i 12 femelles, dels quals 6 de cada grup han estat tractats amb THC i 6 amb una solució control (VEH). A més, hem de tenir en compte que el rendiment d'aquesta prova es pot veure afectat per diferents factors, com poden ser el pes i el sexe del ratolí, la presència de senyals espacials, la durada de les proves, les dimensions i la il·luminació del laberint, etc. Per aquesta raó, és necessari un control de variables, de manera que totes les condicions eren

iguals per a tots els ratolins i d'aquesta manera ens assegurem que els resultats obtinguts depenen de la variable estudiada, que en aquest cas és la presència de THC a l'organisme.

Un cop acabada la prova final, posada a la pràctica per la investigadora Carla Ramon a causa de la normativa de l'IMIM, la qual prohibeix l'entrada a la zona on es tracten els animals a personal no qualificat, em vaig disposar a analitzar els vídeos dels ratolins, cronometrant el temps que passava cada ratolí amb l'objecte nou i el temps que passava amb el familiar.

Finalment, per tal de conèixer el rendiment de la memòria de cada ratolí vaig calcular un índex de discriminació. Com més temps passen explorant l'objecte nou, més gran és aquest índex i més bona és la memòria.

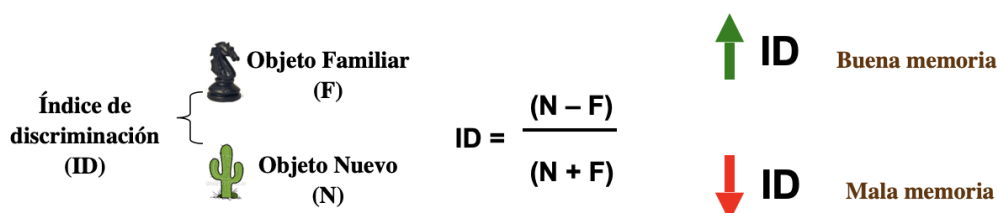


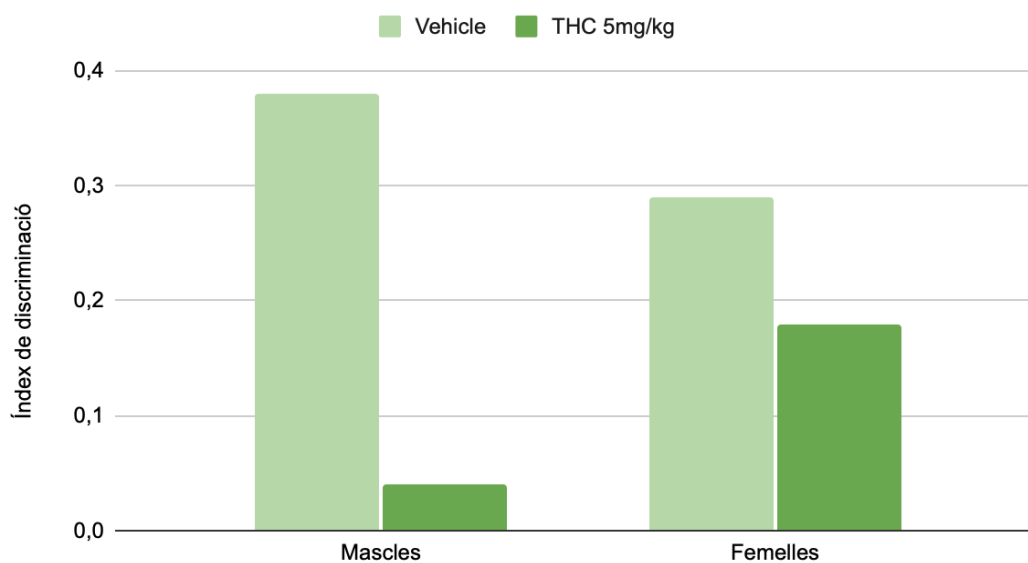
Figura 16. Càlcul de l'índice de discriminació, on 'N' és el temps que ha passat el ratolí explorant l'objecte nou i 'F' és el temps que ha passat explorant el familiar.

				Test (+24h)		
	CAIXA	NÚMERO	TRACTAMENT	TEMPS N	TEMPS F	ID
MASCLES	A	A1	VEH	58,7	15	0,59
		A2	VEH	61,67	46,97	0,14
		A3	THC	68,86	67,25	0,01
		A4	THC	36,67	31,19	0,08
	B	B1	VEH	72,34	30,2	0,41
		B2	VEH	46,21	34,62	0,14
		B3	THC	65,3	49,23	0,14
		B4	THC	55,16	60,35	-0,04
	C	C1	VEH	69,72	23,43	0,50
		C2	VEH	64,67	21,7	0,50
		C3	THC	52,23	39,64	0,14
		C4	THC	45,43	53,77	-0,08

Taula 1. Índice de discriminació en mascles

				Test (+24h)		
	CAIXA	NÚMERO	TRACTAMENT	TEMPS N	TEMPS F	ID
FEMELLES	D	D1	VEH	74,19	44,77	0,25
		D2	VEH	87,79	56,29	0,22
		D3	THC	70,31	26,02	0,46
		D4	THC	52,19	44,73	0,08
	E	E1	VEH	83,87	41,28	0,34
		E2	VEH	51,79	31,56	0,24
		E3	THC	72,43	43,75	0,25
		E4	THC	69,74	62,29	0,06
	F	F1	VEH	100,56	42,93	0,40
		F2	VEH	65,78	35,12	0,30
		F3	THC	47,14	39,21	0,09
		F4	THC	45,33	33,1	0,16

Taula 2. Índex de discriminació en femelles.



Gràfic 1. Representació gràfica dels índex de discriminació

- Com podem veure al gràfic, la presència de THC a l'organisme produeix als ratolins un dèficit de memòria, més significatiu en mascles que en femelles. (Per tal d'intentar veure quina podria ser la raó d'aquesta diferència entre sexes analitzarem els resultats dels propers experiments).

2. EXPERIMENT II: TÉ EFECTES EL THC EN EL COMPORTAMENT DE RATOLINS ADOLESCENTS?

L'experiment II es basa en la pregunta següent: **té efectes el THC en el comportament de ratolins adolescents?**

Per la realització d'aquest experiment, he utilitzat els vídeos enregistrats en acabar la segona fase del test de reconeixement d'objectes de les caixes B, C, D i E (dues de mascles i dues de femelles), 4 hores després d'haver tractat els ratolins amb THC/VEH.

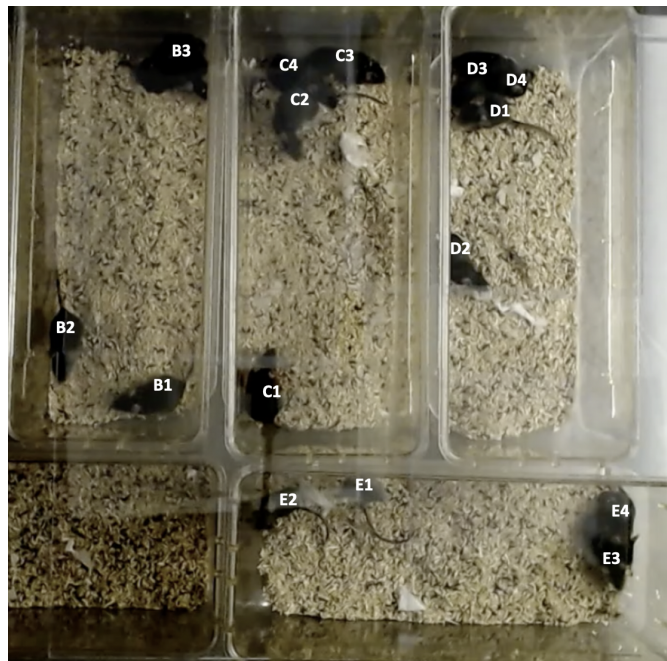
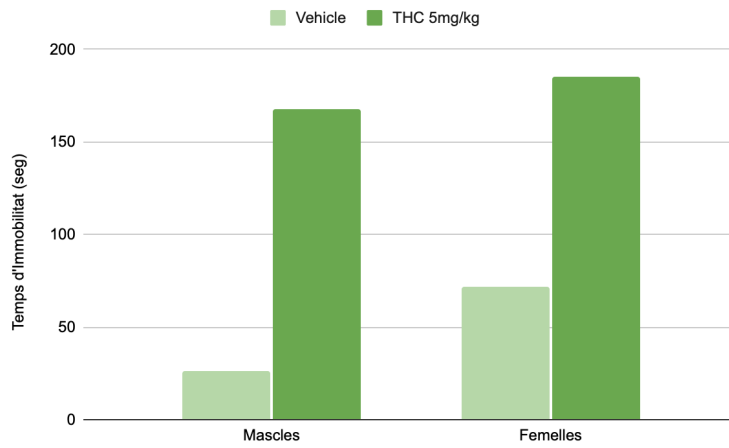


Figura 17. Captura dels vídeos d'anàlisi de comportament

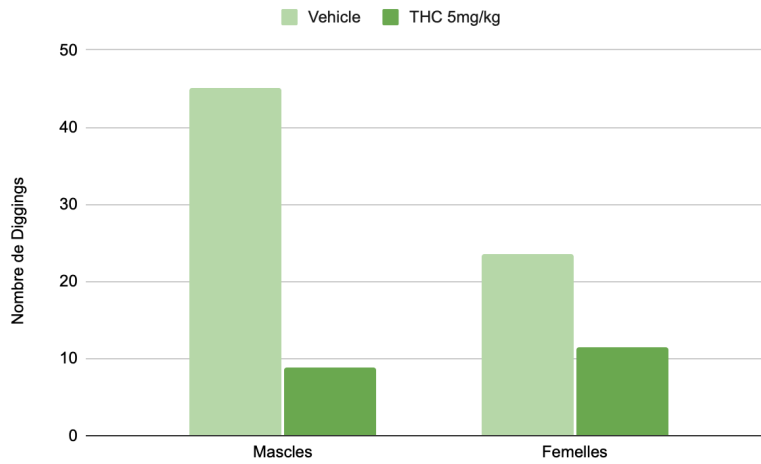
Mitjançant aquests vídeos, he observat individualment a 16 ratolins durant 10 minuts, comptabilitzant els trets de comportament següents:

- Temps d'immobilització
- *Diggings* (excavar)
- *Rearings* (aixecar-se)
- *Crossings* (moviment directe de banda a banda de la caixa)
- Contactes socials

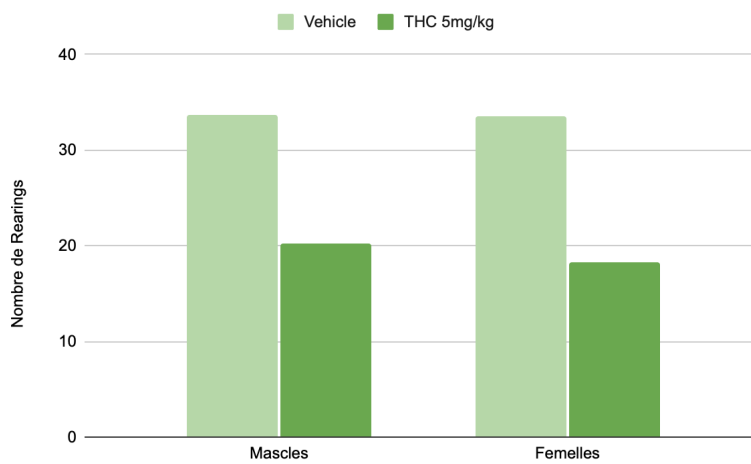
Els resultats obtinguts d'aquesta observació es mostren a continuació (annex V):



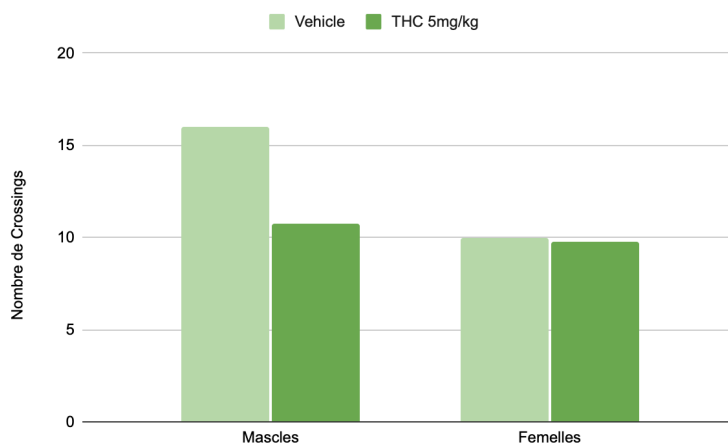
Gràfic 2. Temps d'Immobilització THC/VEH



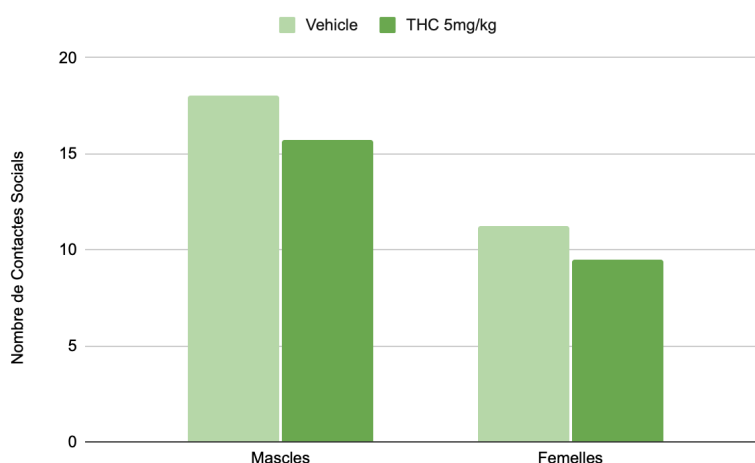
Gràfic 3. Diggings THC/VEH



Gràfic 4. Rearings THC/VEH



Gràfic 5. Crossings THC/VEH



Gràfic 6. Contactes Socials THC/VEH

Com podem veure a les diferents gràfiques, sembla que el THC en model animal pot afectar a diversos comportaments, com són l'activitat general, l'exploració i el contacte social.

En concret, on es pot veure més la diferència és en el temps d'immobilització, el qual és molt major en aquells ratolins tractats amb THC, especialment els mascles. Pel que fa als altres trets de comportament, també podem veure una disminució de l'exploració, major en mascles (*diggings*) però també amb femelles (*rearings*), així com una tendència de disminució de contacte social en ambdós sexes.

3. EXPERIMENT III: S'OBSERVEN CANVIS AL TEIXIT CEREBRAL DELS RATOLINS DESPRÉS D'ADMINISTRAR THC?

L'experiment III es basa en la pregunta següent: **s'observen canvis al teixit cerebral dels ratolins després d'administrar THC?**

Per tal d'observar els possibles canvis produïts al cervell, després de sacrificar i extreure l'hipocamp dels ratolins estudiats anteriorment, vaig realitzar dues proves al laboratori, una amb cada hemisferi.



Figura 18. Mostres de cervell de ratolí

3.1 ESTUDI D'EXPRESSIÓ GÈNICA MITJANÇANT UNA QRT-PCR

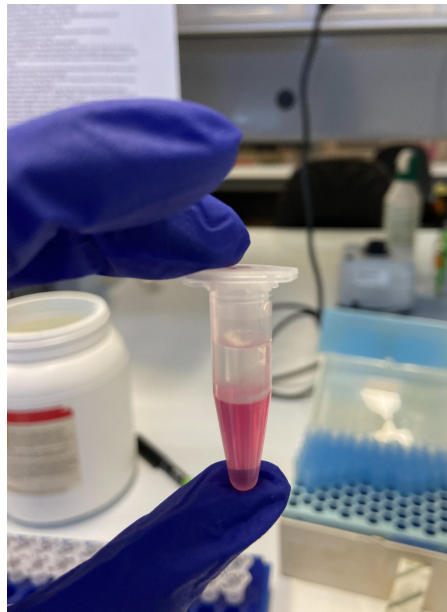
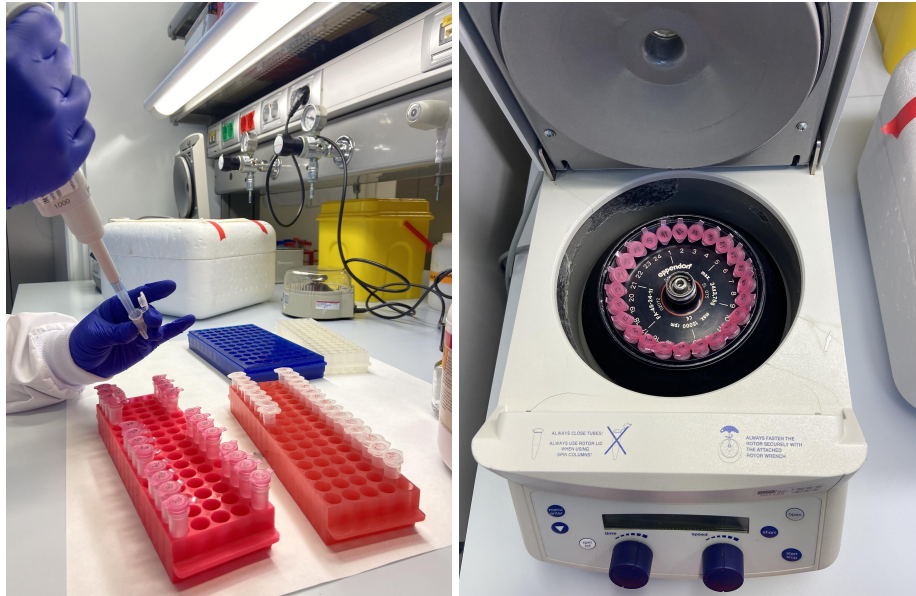
La PCR quantitativa en temps real (qRT-PCR), és una prova de biologia molecular que ens permet determinar el nombre de transcrits de certs gens, de manera que podem veure si la seva expressió és major o menor al que seria normal.

En concret, vaig seguir el protocol (annex I) dissenyat per Sigma-Aldrich, que utilitza SYBER Green, un colorant que permet la quantificació d'ADN de doble cadena. Primer de tot, s'agafen les mostres d'hipocamp (fins ara mantingudes a -80°C sobre gel sec) i s'homogeneïtzen, primer amb dos *Douncers* (fig.19) de diferent diàmetre i després passant la mostra per una agulla.



Figura 19. Douncers

Un cop homogeneïtzada la mostra i després de l'addició de dissolucions tampó (que s'oposen a grans canvis de pH en una dissolució aquosa) i diverses centrifugades, s'obté l'ARN separat dels altres components cel·lulars.



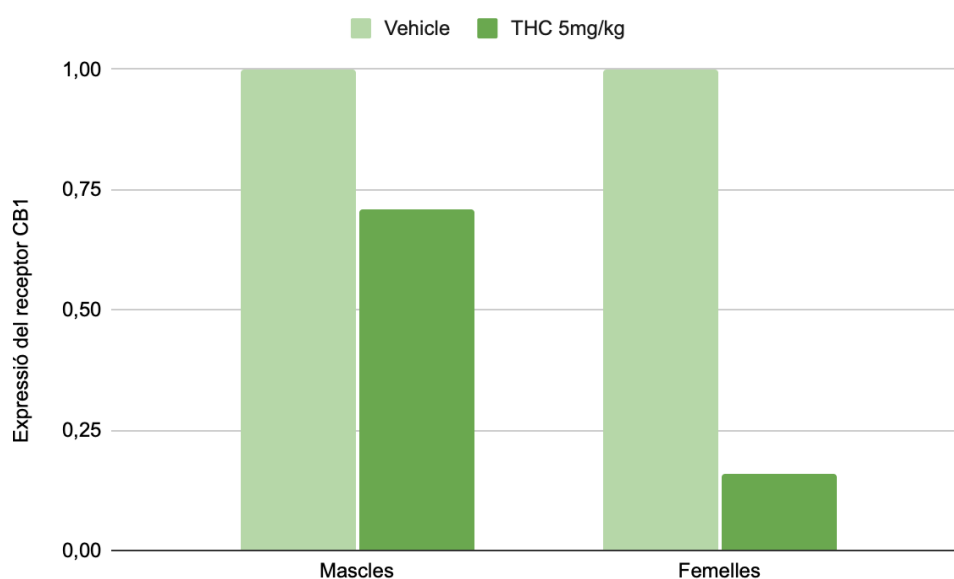
Figures 20, 21 i 22. Aïllament d'ARN

Quan tenim aïllat l'ARN, abans d'amplificar-lo, és necessari fer un procés de retrotranscripció, ja que la taq polimerasa, l'enzim que s'utilitza en les PCR per amplificar una seqüència de gens, només treballa amb ADN. Per tant, fem servir una retrotranscriptasa que ens permet passar d'ARN a ADN complementari. (BioRoth, 2019)

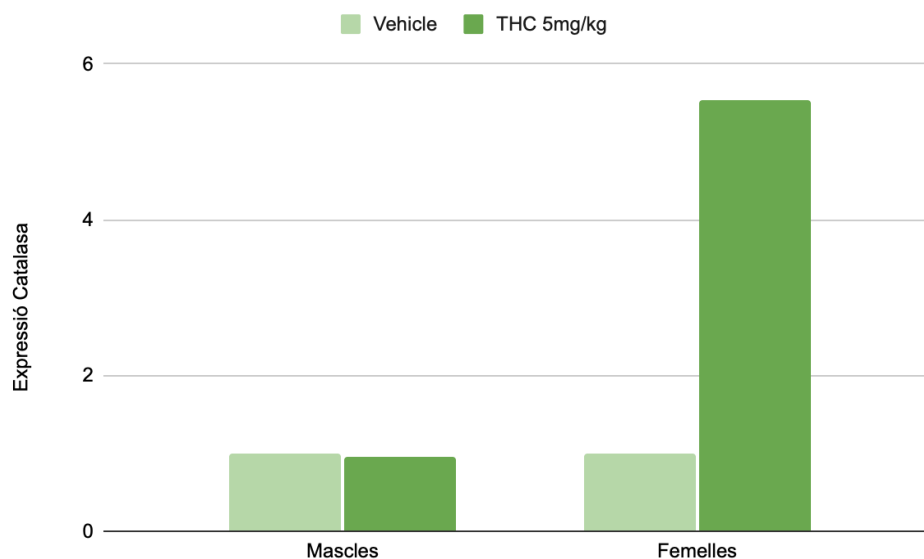
Finalment, s'amplifica l'ADN mitjançant la preparació de tubs on es barreja la mostra que volem analitzar i una mescla específica amb els reactius necessaris. Es fa una placa i es col·loquen les mostres en un termociclador i, gràcies al SYBR Green i un programa de cicles ràpids, obtenim com a resultat un augment en la intensitat de la fluorescència proporcional a la quantitat de producte de PCR produït. A partir d'aquestes dades de fluorescència, es determina el valor de CT (nombre de cicles que s'ha necessitat per donar fluorescència) per a cadascuna de les mostres, i podem determinar els nivells d'expressió d'un gen en concret. Com més alt és el valor de CT, menys expressió del gen, ja que s'ha necessitat més cicles per assolir la fluorescència.

En aquest cas, he estudiat l'expressió gènica de receptors CB1, associats als efectes del THC, catalasa, un enzim antioxidant, i NRF2, una proteïna antioxidant.

Els resultats moleculars obtinguts són els següents:



Gràfic 7. Expressió del receptor CB1 THC/VEH



Gràfic 8. Expressió de Catalasa THC/VEH

- Disminució del receptor CB1 en femelles que no es dona tant en mascles.
- Augment bastant gran de catalasa en femelles.
- No es van veure canvis en l'expressió de NRF2

3.2 PEROXIDACIÓ LIPÍDICA

Amb l'altre hemisferi de les mostres d'hipocamp, vaig realitzar un kit de peroxidació lipídica. (protocol complet a l'annex II). Aquesta prova serveix per mesurar la quantitat de lípids que estan en peroxidació, és a dir, relacionats amb l'estrès oxidatiu, mitjançant l'absorbància colorimètrica del marcador d'estrès oxidatiu *malondialdehid* (MDA).

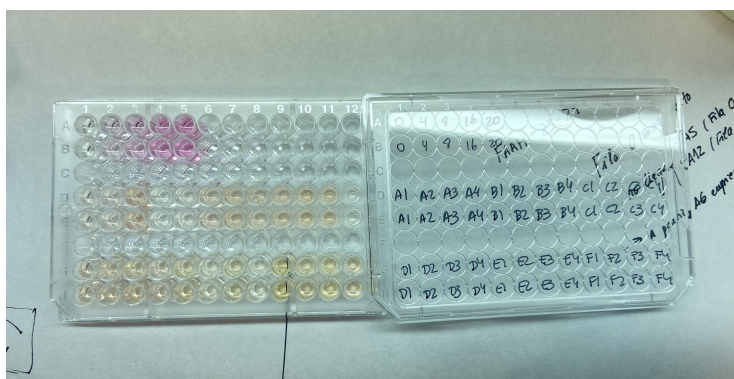
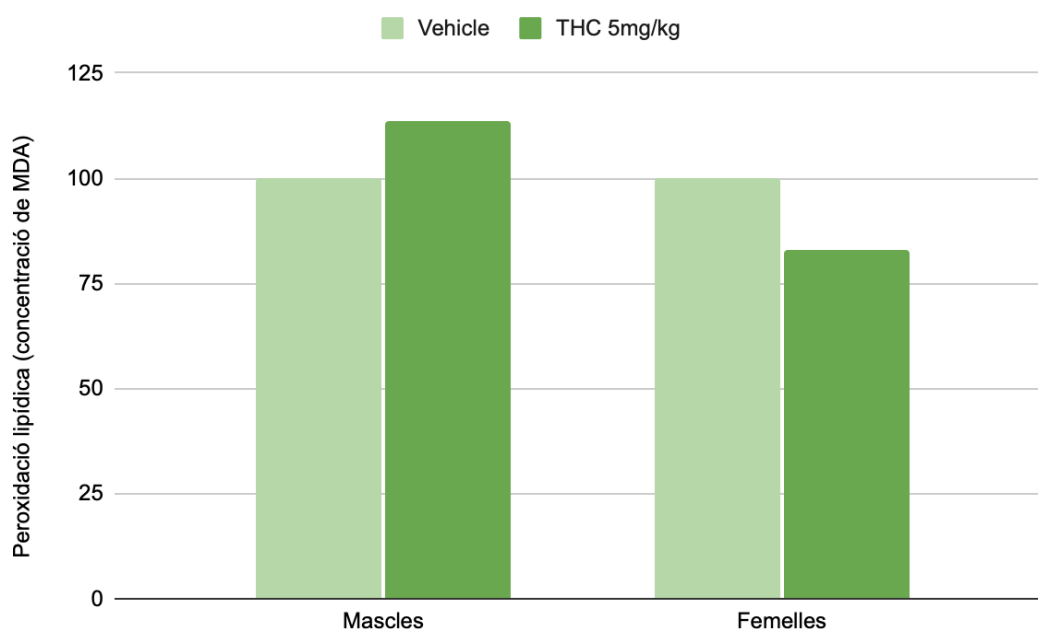


Figura 23. Kit de peroxidació lipídica

L'estrès oxidatiu es produeix quan hi ha un desequilibri entre els radicals lliures d'oxigen i els mecanismes de defensa antioxidant. Per aquesta raó, es produeix un augment de la presència d'aquests radicals dins la cèl·lula que incrementa l'activitat oxidativa, produint un canvi estructural i funcional a la cèl·lula que accelera el seu envelliment i l'apoptosi (mort cel·lular). Com a conseqüència, l'estrès oxidatiu afavoreix l'aparició de diverses patologies, com malalties cardiovasculars, càncer, malalties relacionades amb l'envelliment i trastorns neurològics. (Sanitas, n.d.)

Els resultats obtinguts del kit de peroxidació lipídica són els següents (annex V):



Gràfic 9. Peroxidació Lipídica THC/VEH

- Lleugera tendència d'augment de peroxidació lipídica en mascles i lleugera disminució en femelles.

4. INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS DELS EXPERIMENTS

En primer lloc, sabem que després d'administrar un fàrmac cannabinoide diverses vegades als ratolins hi ha una reducció del receptor CB1 que no es recupera fins que es para el tractament. (Busquets, A.) Com hem vist al gràfic 7, després d'una injecció aguda de THC, l'expressió del receptor CB1 en femelles és molt menor que en mascles, fet que indicaria que aquest procés de degradació del receptor és més ràpid en aquest sexe i per tant una raó per la qual el THC no afecta tant a les femelles.

En segon lloc, hem vist que hi ha un augment bastant gran de catalasa en femelles, pel que sembla que, 24 hores després d'administrar THC, en femelles s'activen unes vies antioxidants que no s'activen en mascles. De la mateixa manera, això es veuria reflectit en la peroxidació lipídica, que en femelles disminueix mentre que en mascles tendeix a augmentar. Aquest fet es podria relacionar amb el dèficit de memòria produït en mascles en el primer experiment, ja que un major estrès oxidatiu a l'hipocamp està associat a dèficits cognitius.

En resum, el THC en mascles sembla que augmentaria estrès oxidatiu, que seria la causa del dèficit de memòria i els efectes en comportament. En femelles, en canvi, sembla que el THC activa un mecanisme antioxidant que es tradueix en una disminució d'estrès oxidatiu i per tant, explicaria per què no es veu un dèficit de memòria tan significatiu.

5. ENQUESTA

Per completar la meua part pràctica, he dut a terme una enquesta mitjançant la qual volia complir els objectius següents:

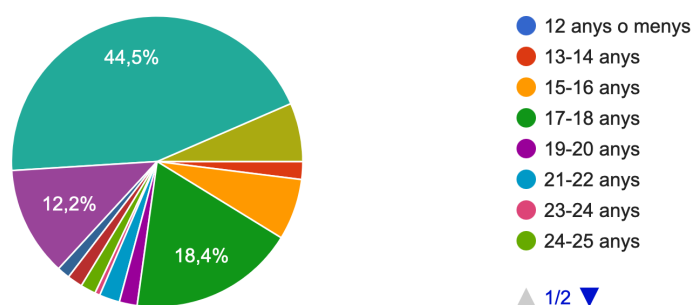
- Analitzar la percepció de risc de la població sobre els efectes psicològics no desitjats del consum de cànnabis, segons l'edat i el nivell d'estudis.
- Saber si hi ha relació entre la presència de persones consumidores a l'entorn (familiars/amics) i el consum de cànnabis.
- Comprovar si els resultats de dèficit de memòria obtinguts a l'experiment I queden reflectits a l'enquesta, segons el sexe.
- Obtenir respostes a preguntes d'interès. Per exemple, les raons per les quals es consumeix o saber si la gent es documenta sobre els possibles efectes no desitjats del consum.

L'enquesta, les respostes de la qual han estat completament anònimes, s'ha realitzat a través d'un Formulari de Google compartit via xarxes socials com WhatsApp i Instagram a un total de 353 persones, classificades de la següent manera:

SEGONS L'EDAT

Joves (12-25 anys): 119

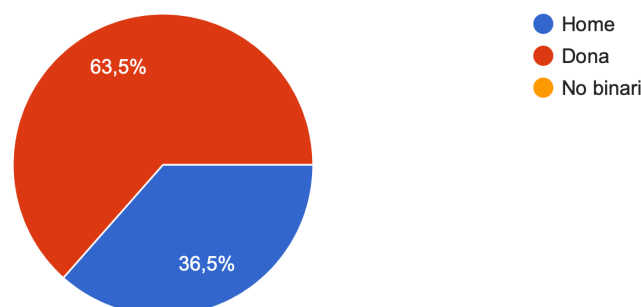
Adults (més de 25 anys): 234



SEGONS EL SEXE

Dones: 224

Homes: 129



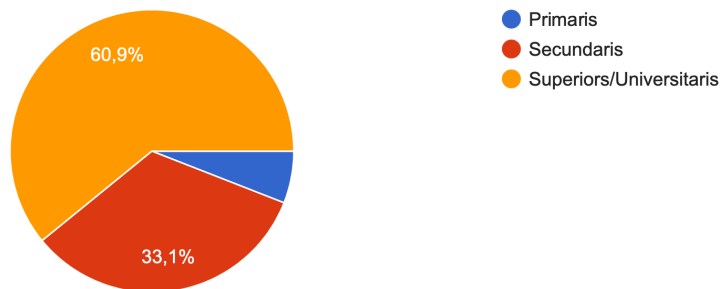
Gràfics 10 i 11. Edat i Sexe

SEGONS ELS ESTUDIS

Estudis primaris: 21

Estudis secundaris: 117

Estudis superiors/universitaris: 215



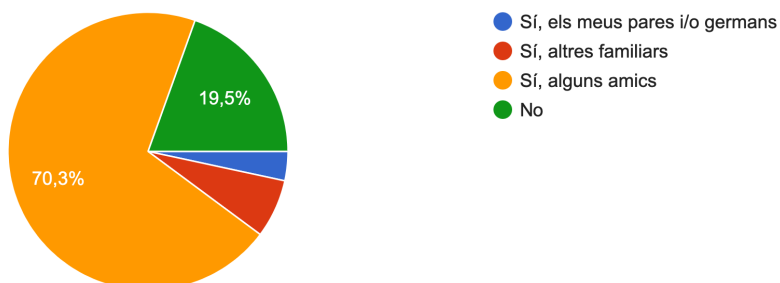
Gràfic 12. Nivell d'estudis

SEGONS SI LES PERSONES QUE L'ENVOLTEN EN CONSUMEIXEN/N'HAN CONSUMIT

Familiars consumidors: 36

Amics consumidors: 248

Cap persona de l'entorn: 69

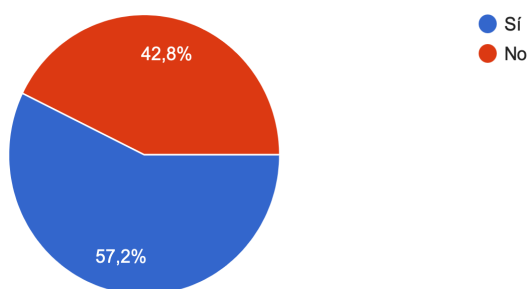


Gràfic 13. Les persones que t'envolten en consumeixen/n'han consumit en un passat?

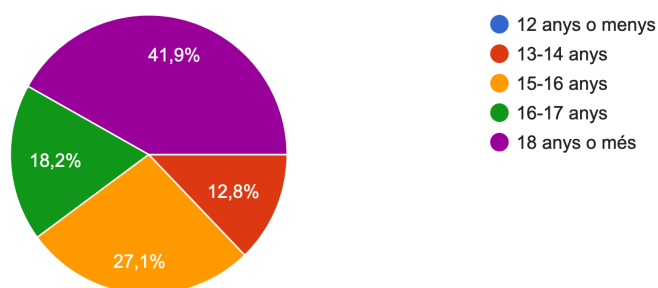
5.1 ANÀLISI DE LA PERCEPCIÓ DE RISC

En primer lloc es preguntava si s'havia consumit cànnabis/marihuana alguna vegada i, en cas d'afirmació, l'edat en la qual es va consumir per primera vegada.

Dels 353 enquestats, 202 (57,2%) afirmen haver-ne consumit almenys una vegada.



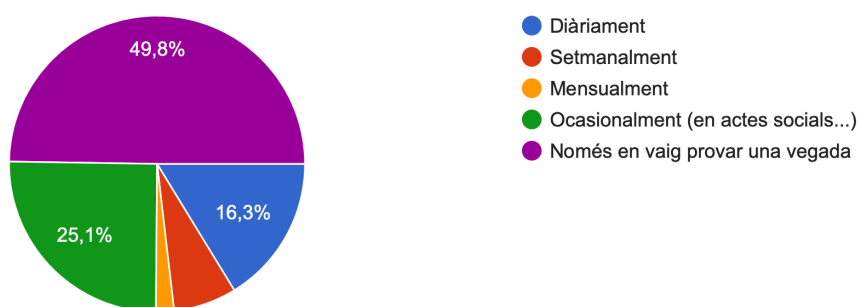
Gràfic 14. Has consumit cànnabis/marihuana alguna vegada?



Gràfic 15. Si és així, quina edat tenies la primera vegada?

Pel que fa a l'edat d'inici, la majoria dels enquestats tenien **menys de 18 anys (58,1%)** en consumir cànnabis per primera vegada i, segons els resultats obtinguts, acostuma a ser entre els 15-16 anys. Per contra, un 41,9% eren majors d'edat quan en van consumir.

A continuació, es demanava als enquestats consumidors que especificuessin la **freqüència** de consum.

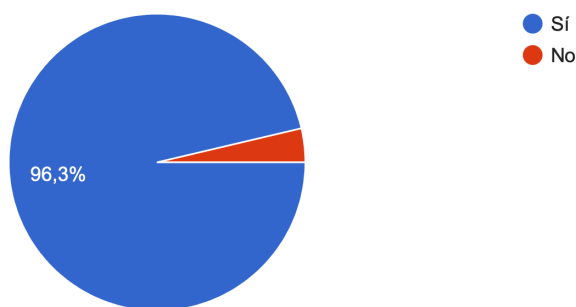


Gràfic 16. Cada quan en consumeixes?

Com es pot veure al gràfic, la majoria d'enquestats (49,8%) només ho va provar una vegada i entre els consumidors predomina el consum ocasional, en actes socials (25,1%). Cal destacar, però, que entre el 25,2% d'enquestats que en consumeixen habitualment (entre els quals un 16,3% consumeix la droga diàriament, un 6,9% ho fa setmanalment i un 2% mensualment), un 84,3% són conscients que un consum prolongat i regular de cànnabis pot provocar-los problemes de salut a llarg termini.

Tot seguit, per analitzar la percepció de risc es formulaven les següents preguntes:

1. Creus que el consum de cànnabis de forma prolongada i regular pot provocar alguna mena de problema de salut a llarg termini?



Gràfic 17. Creus que el consum de cànnabis de forma prolongada i regular pot provocar alguna mena de problema de salut a llarg termini?

Segons l'edat

Tant la majoria de joves com la majoria d'adults, creuen que el consum de cànnabis de forma prolongada i regular pot provocar alguna mena de problema de salut a llarg termini (96% en cada cas).

Segons el nivell d'estudis

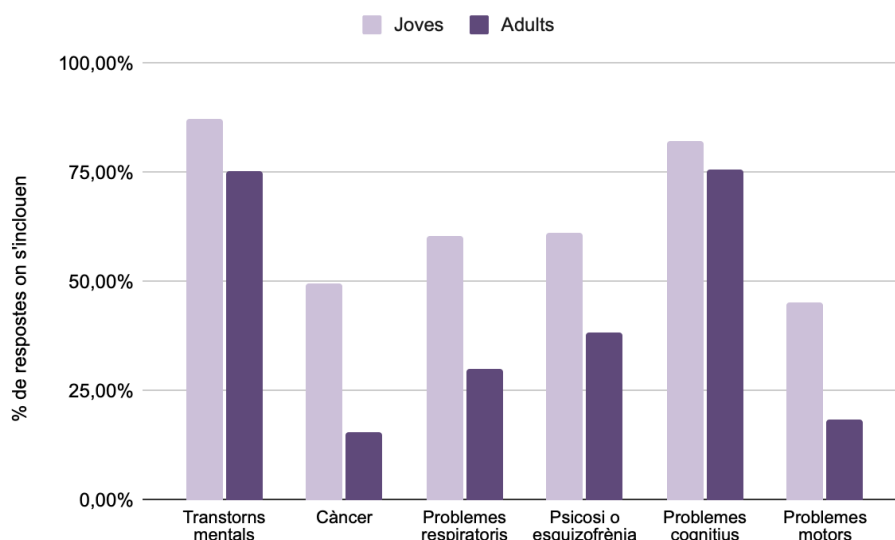
Pel que fa als estudis, un 14,28% dels enquestats amb estudis primaris creu que el consum no pot provocar cap mena de problema a llarg termini, mentre que en nivells d'estudi més elevats el percentatge de persones que ho creu és menor, un 4,27% en el cas de persones amb estudis secundaris i un 2,32% de les persones amb estudis superiors/universitaris.

2. Quins?

En aquesta pregunta, els enquestats tenien l'opció de resposta múltiple i es proposaven els següents problemes:

- Trastorns mentals (ansietat, depressió...)
- Càncer
- Problemes respiratoris
- Psicosi o esquizofrènia
- Problemes cognitius (memòria, atenció, percepció...)
- Problemes motors
- Altres

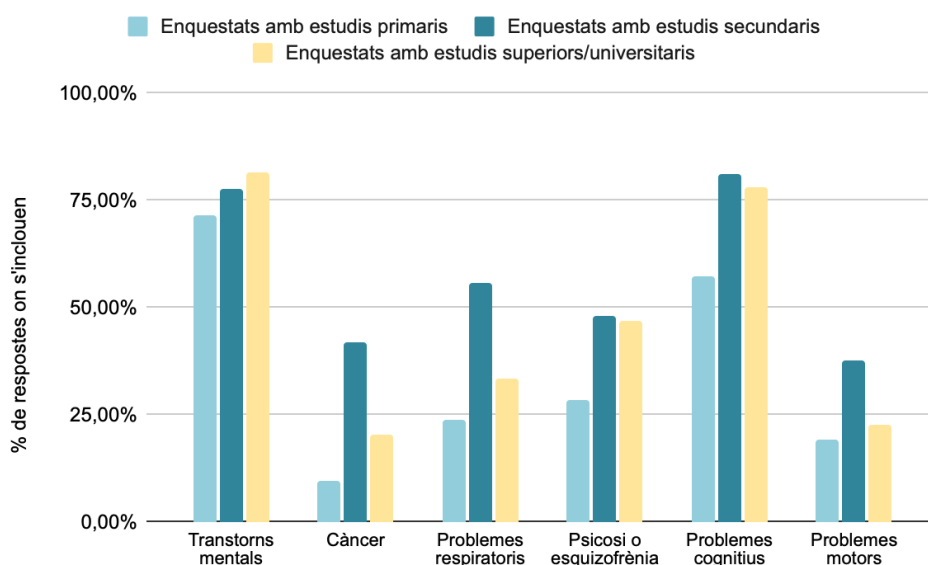
Segons l'edat



Gràfic 18. Percentatge de respostes on s'inclouen els problemes mencionats pels joves/adults

Com podem veure al gràfic, sembla que els joves tenen més coneixença sobre la varietat de problemes que pot provocar el consum de cànnabis. Ambdós grups el relacionen especialment amb els trastorns mentals i els problemes cognitius. Tot i això, els joves tenen més en compte malalties com el càncer o els problemes respiratoris i motors, opcions que no han estat tan mencionades en les respostes de la població adulta.

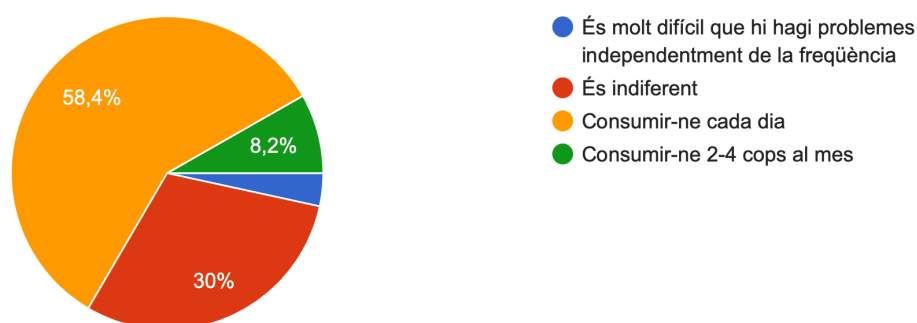
Segons el nivell d'estudis



Gràfic 19. Percentatge de respostes on s'inclouen els problemes mencionats segons el nivell d'estudis dels enquestats.

Des del punt de vista dels estudis, sembla que les persones amb estudis secundaris són les més conscients sobre els diferents problemes que poden sorgir a conseqüència del consum. En aquesta pregunta, com a l'anterior, les persones amb només estudis primaris són les que presenten un menor coneixement sobre els derivats problemes.

3. Quina freqüència mínima de consum creus que s'ha de presentar per a desenvolupar aquests problemes?



Gràfic 20. Quina freqüència mínima de consum creus que s'ha de presentar per a desenvolupar aquests problemes?

Segons l'edat

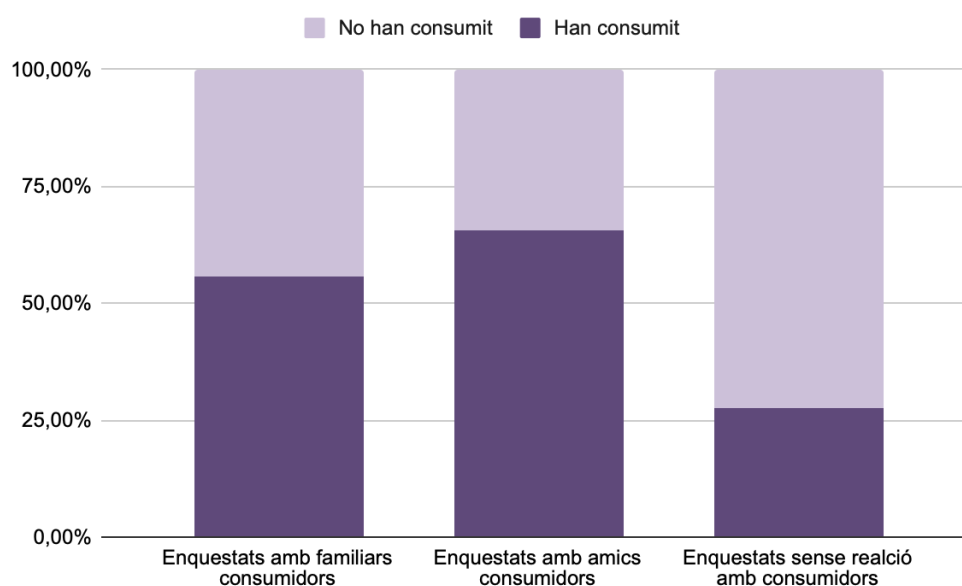
La majoria dels enquestats creu que és necessari un consum diari perquè apareguin problemes, entre ells el 62,2% dels joves i el 56,4% dels adults. Per contra, només un 1,6% dels joves i un 4,2% dels adults creu que és molt difícil que hi hagi problemes, independentment de la freqüència. Pel que fa a la resta, un 27,73% dels joves i un 31,19% dels adults, consideren indiferent la freqüència per la qual poden aparèixer problemes i els altres, un 8,4% i un 8,11% respectivament, pensen que consumir-ne 2-4 cops al mes ja seria suficient perquè sorgís alguna mena de problema de salut.

Segons el nivell d'estudis

Igual que segons l'edat, la majoria d'enquestats consideren que només poden aparèixer problemes en cas que es consumeixi cànnabis diàriament. Aquesta majoria és representada per un 57,14% dels enquestats amb estudis primaris, un 59,83% amb estudis secundaris i un 57,67% amb estudis superiors.

Tot i això, és entre els que tenen només estudis primaris on hi ha més persones que consideren difícil l'aparició de problemes, amb un 9,5% dels enquestats, mentre que al grup amb estudis secundaris i el grup amb estudis superior aquesta creença disminueix, amb un 4,27% i un 2,33% dels enquestats, respectivament. Finalment, un 23,8% amb estudis primaris i al voltant d'un 30% amb estudis secundaris/superiors creu que és indiferent la freqüència de consum respecte a possibles problemes i un 9,5% amb estudis primaris, un 5,13% amb estudis secundaris i un 9,77% amb estudis superiors pensa que seria necessari consumir-ne varies vegades al mes.

5.2 RELACIÓ ENTRE LA PRESENCIA DE PERSONES CONSUMIDORES A L'ENTORN I CONSUM DE CÀNNABIS



Gràfic 21. Comparació entre els percentatges de persones consumidores en relació amb la presència de persones consumidores/exconsumidores al seu entorn.

- Dels enquestats amb algun **familiar** que consumeix/ha consumit cànnabis, un **55,6%** també n'ha consumit alguna vegada, dels quals un 20% en consumeix diàriament, un 5% mensualment, un altre 5% setmanalment, un 25% ocasionalment i un 45% només ho va provar una vegada.

- Dels enquestats amb algun **amic** consumidor/exconsumidor, un **65,7%** també n'ha consumit alguna vegada, dels quals un 15,3% en consumeixen diàriament, un 1,2% mensualment, un 6,1% setmanalment, un 25,2% ocasionalment i un 46,62% només el van provar una vegada.
- Dels enquestat que no tenen **cap persona** propera consumidora/exconsumidora, un **27,5%** ha consumit cànnabis alguna vegada, tot i que només un 5,2% ho fa diàriament i un 68,4% ho va provar només una vegada i un 21% ho fa ocasionalment.

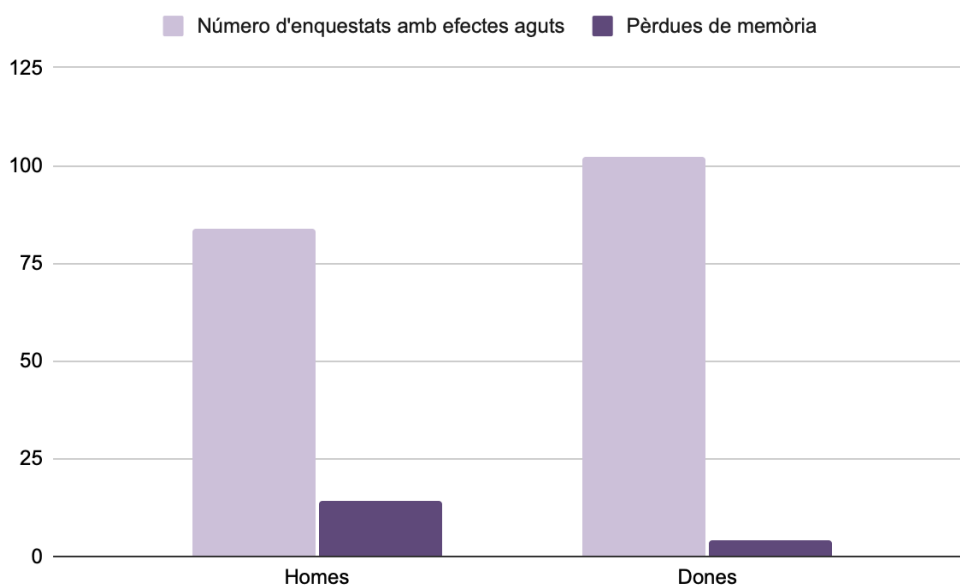
En resum, les persones que tenen amics consumidors/exconsumidors són les més propenses a consumir-ne, almenys una vegada. Tanmateix, sembla que són les persones que tenen algun familiar consumidor les que tendeixen a consumir-ne més sovint i per tant presenten un major risc a desenvolupar patologies. Per altra banda, la majoria de persones que no tenen cap relació amb persones consumidores acostumen a provar-ho només una vegada. En els tres casos, al voltant d'un 25% de les persones, en consumeix ocasionalment.

5.3 RELACIÓ AMB ELS EXPERIMENTS

Finalment, amb l'objectiu de relacionar els resultats obtinguts en els experiments realitzats a l'IMIM sobre el dèficit de memòria i els canvis en comportament que provoca el THC, he cregut oportú comprovar si els resultats en ratolins quedaven reflectits també a l'enquesta a la població. Per fer-ho, s'ha formulat la següent pregunta: **quins efectes aguts t'ha provocat el consum de cànnabis?**

Número d'enquestats que ha patit algun efecte agut en consumir cànnabis: 186

- De les 102 dones que han patit efectes, 4 afirmen haver tingut pèrdues de memòria.
- Dels 84 homes que han patit efectes, 14 afirmen haver tingut pèrdues de memòria.



Gràfic 22. Homes/Dones que presenten pèrdues de memòria entre els efectes aguts patits.

Només un **3,9%** de les **dones** que han patit efectes presenten pèrdues de memòria entre els efectes patits. En canvi, un **16,7%** dels homes asseguren haver tingut pèrdues de memòria després de consumir cànnabis. Per tant, d'acord amb aquests resultats i tal com s'havia vist a l'experiment en ratolins, podríem dir que el consum de cànnabis pot provocar pèrdues de memòria, fet més probable en mascles.

Per altra banda, els principals efectes aguts produïts als enquestats són els següents:

- Relaxació (54,8%)
- Somnolència (39,2%)
- Alteració de la capacitat de concentració (28%)
- Eufòria (25,8%)
- Alteració de l'equilibri i la coordinació(23,7%)
- Alteració de la percepció del temps (22%)

Per tant, tal com havíem vist mitjançant l'observació dels ratolins a l'experiment II, podríem dir que el consum està relacionat amb una disminució de l'activitat en general. En el cas dels

ratolins, augmentava el temps d'immobilitat i disminuïa l'exploració i a l'enquesta podem veure que un dels efectes més comuns són els de relaxació i somnolència.

A més, cal mencionar que un 13 dels enquestats va assegurar que no li havia produït cap efecte, dels quals 9 (69,23%) eren dones.

5.4 PREGUNTES D'INTERÈS

Per últim, a l'enquesta també s'hi van incloure algunes preguntes d'interès personal:

- **Per quines raons en consumeixes/vas consumir?**

En aquesta pregunta, les principals raons que es van donar per a justificar el consum de cànnabis van ser la diversió (54,5%), la curiositat (38%), per relaxar-se (27,3%), oblidar problemes personals (9,1%) i per integrar-se al grup o a causa de la pressió dels companys (5,9%). Cal destacar que només 2 persones en consumeixen per raons terapèutiques, seguint les indicacions dels metges.

- **Et vas sentir pressionat a consumir-ne?**

Davant d'aquesta pregunta, un 8,4% dels enquestats que havien consumit cànnabis reconeixien que sí que es van sentir pressionats a consumir-ne.

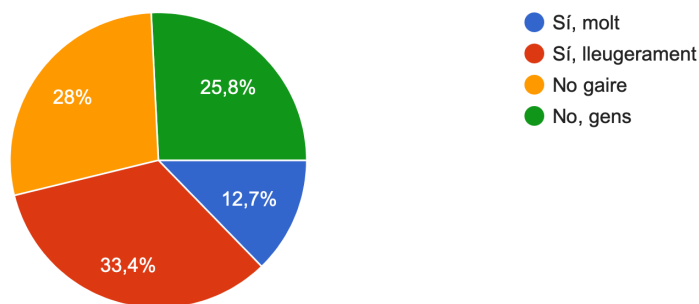
- **Si n'has consumit, de quina manera el vas obtenir/l'obtens?**

La majoria dels enquestats ho van fer/ho fan a través d'un amic/familiar (80%), tot i que també hi ha qui en compra a un venedor (camell) (9,3%) o n'adquireix en zones de lleure com festivals o discoteques (6,3%). També hi ha persones que opten per l'autocultiu (2%) o botigues especialitzades (0,5%).

- **Si en consumeixes, formes part d'alguna associació/club de consumidors?**

Entre els consumidors habituals, un 10,5% forma part d'alguna associació.

- **T'has documentat mai sobre els possibles efectes esmentats anteriorment?**



Gràfic 23. T'has documentat mai sobre els possibles efectes esmentats anteriorment?

Com es pot veure al gràfic, hi ha força varietat respecte a l'interès de la gent per documentar-se sobre les possibles conseqüències que pot provocar el consum de cànnabis a la salut. Un 12,7% assegura haver-se informat molt sobre el tema i un 33,4% s'ha documentat lleugerament. Tanmateix, la majoria no ha fet cap mena de cerca relacionada (25,8%) o n'ha fet molt poques (28%).

6. ENTREVISTES A ESPECIALISTES

En aquest darrer apartat del meu treball, queden reflectides les aportacions i opinions de dos professionals en l'àmbit: Dr. Eduard Cama Bofill, psiquiatre de Palafrugell, i el Dr. Arnau Busquets García, líder d'un grup d'investigació del programa de neurociències de l'IMIM.

Les entrevistes completes es troben als annexos III i IV.

6.1 ENTREVISTA AL PSIQUIATRE EDUARD CAMA

En primer lloc, analitzo l'entrevista realitzada al Dr. Eduard Cama, psiquiatre de Palafrugell.

Segons Eduard Cama, els trastorns mentals són un dels problemes més freqüents a causa del consum de cànnabis.

L'especialista exposa que durant l'adolescència és on s'observa el major risc d'iniciar el consum. Durant aquest període és quan es busquen sensacions noves o s'intenten suplir malestans interns que no es saben gestionar per falta de maduresa i això, conjuntament amb l'estesa consideració del cànnabis com una droga suau i la relació amb un entorn consumidor que normalitzen el consum, fan que aquest risc augmenti.

A més, defensa que consumir durant l'adolescència genera més probabilitats de patir un trastorn mental, ja que és el moment crucial en el neurodesenvolupament, on es creen milions de connexions cel·lulars. Aquestes connexions es poden veure afectades per culpa d'una agressió externa com pot ser el consum de cànnabis i d'aquesta manera augmenta de forma exponencial la predisposició a patir qualsevol forma de trastorn mental.

L'especialista explica que els principals trastorns mentals associats al consum de cànnabis són els trastorns psicòtics, especialment l'esquizofrènia paranoide, tot i que també s'hi relacionen els trastorns d'ansietat, trastorns del sol i trastorns de l'estat d'ànim (com seria la depressió o el trastorn bipolar). En tots els casos, la predisposició genètica de patir el trastorn juga un paper molt important, ja que el consum fa que aquest aparegui abans i que

l'evolució clínica i la resposta al tractament siguin pitjors. A partir de la seva experiència, ha pogut comprovar de forma rotunda que qualsevol problemàtica de salut mental evoluciona pitjor, respon pitjor al tractament i provoca major malestar personal en el cas que hi hagi consum de qualsevol tòxic (inclòs el cànnabis). A més, també destaca que el consum crònic acostuma a provocar l'anomenat síndrome amotivacional, que es caracteritza per la presència de clínica amb marcada apatia, falta de motivació i dificultats en concentració i planificació que tendeix a cronificar-se i a respondre pobrament al tractament.

Pel que fa als fàrmacs cannabinoïdes, puntualitza que es pot tractar la clínica derivada del consum (segons els símptomes que es presentin: antipsicòtics, antidepressius, ansiolítics...), però que el dany que genera el consum de cànnabis en el neurodesenvolupament cerebral (sobretot en l'adolescència-inici de l'edat adulta) no es pot revertir amb tractament farmacològic i a la vegada afavorirà que puguin desenvolupar-se i debutar els diferents trastorns mentals mencionats.

Explica que, a part de tractar els possibles trastorns que es presentin associats al consum, el tractament de desintoxicació es basaria en ajudar a frenar l'ansietat i/o dificultats del son que es poden presentar quan es para de consumir. En aquests casos és relativament fàcil tractant farmacològicament símptomes que puguin aparèixer, però expressa que el més complicat és tenir consciència del problema, presentar la motivació màxima i deshabituat-se per no recaure, per la qual cosa és necessari un abordatge psicològic.

Finalment, el doctor Cama es mostra totalment a favor de l'ús del cànnabis amb finalitats terapèutiques i ho argumenta de la següent manera: "Habitualment utilitzem fàrmacs que són derivats de drogues d'abús (estimulants que deriven de l'amfetamina, la morfina que és un derivat de l'heroïna...) i sabem que ben utilitzats són una arma potent per tractar diversos tipus de problemàtiques mèdiques. I de la mateixa manera que en el cas d'aquestes altres drogues, el cànnabis pot tenir un paper important en l'abordatge d'altres tipus de patologies. Cal regular-ho i comercialitzar-ho de forma ordenada i coordinada perquè tothom es pugui beneficiar dels seus efectes beneficiosos."

6.2 ENTREVISTA AL DR. ARNAU BUSQUETS

En segon lloc, analitzo l'entrevista realitzada al Dr. Arnau Busquets, líder d'un grup d'investigació del programa de neurociències de l'IMIM, que l'any passat va rebre el prestigiós *ERC Starting Grant*, una beca europea d'1,5 milions d'euros per al desenvolupament del seu innovador projecte: entendre com prenem decisions basades en associacions indirectes que el nostre cervell fa constantment i que podrien se la base de la psicosi.

L'investigador confirma que, fent servir el ratolí com a model animal, els efectes en memòria i en activitat motora produïts per l'administració de THC observats en ratolins adolescents en aquest treball també es veuen en ratolins adults, tant en els seus estudis previs com altres treballs publicats. En canvi, exposa que el tema dels efectes en femelles s'ha estudiat molt menys, i encara no saben per què les femelles són aparentment menys sensibles als efectes cognitius del THC, tal com s'ha vist en els resultats d'aquest treball. La hipòtesi plantejada, on es proposa l'activació d'un mecanisme antioxidant contra l'estrès oxidatiu com a possible raó per la qual les femelles semblen estar més protegides als efectes del THC, és considerada vàlida per l'especialista. Tanmateix, assenyala que calen experiments addicionals i un estudi més precís per tal de veure si aquest és realment el motiu.

Pel que fa als estudis amb ratolins, expressa que la similitud entre les regions cerebrals dels ratolins i les dels humans ens permet saber quins efectes es poden produir en humans, tot i que després de confirmar el que s'ha vist en ratolins, s'ha de veure quines aproximacions es podrien fer en humans per tal de veure si el cànnabis causa el mateix que en animals. El que sí que saben, però, és que el cànnabis afecta en memòria i aprenentatge tant en ratolins com en humans.

De la mateixa manera que el Dr. Eduard Cama, el doctor destaca la importància del consum durant l'adolescència, que a part de causar efectes coneguts com pèrdua de memòria, afectació motor, efectes en l'estat d'ànim... altera el desenvolupament correcte del cervell i produeix canvis que a llarg termini poden afavorir malalties neuropsiquiàtriques com l'esquizofrènia en casos concrets.

Per últim, reconeix que, tot i que el cànnabis en joves és molt perillós, també considera que té propietats terapèutiques molt millors que fàrmacs ja coneguts. Ha demostrat ser, per exemple, molt útil per combatre el dolor crònic, espasmes en esclerosi múltiple o vòmits produïts per quimioteràpia (analgèsic, antiemètic, protegeix d'espasmes, etc.) i defensa que cal realitzar molta més recerca per tal d'entendre millor com el cànnabis produeix efectes terapèutics per tal d'utilitzar-lo en altres malalties.

CONCLUSIONS

Un cop finalitzat aquest treball de recerca, puc dir que he assolit tots els objectius plantejats a l'inici. En primer lloc, a partir de la fase documental mostrada en el marc teòric del treball, he adquirit nous coneixements sobre el tema tractat: he conegut quins són els principals components psicotròpics del cànnabis i el motiu pel qual tenen un efecte sobre els individus, l'anomenat sistema endocannabinoide. De la mateixa manera i gràcies a les entrevistes, he pogut aconseguir la informació necessària que em permet concloure que el cànnabis pot ser la causa de l'aparició o agreujament de certes malalties mentals com ara l'esquizofrènia, l'ansietat, la depressió, trastorns del son o l'anomenat síndrome amotivacional, especialment durant l'adolescència i en persones amb predisposició genètica. A més, també he investigat la possible aplicació del cànnabis en l'àmbit terapèutic, sobretot en malalties oncològiques i neurològiques, en les quals un tractament amb cannabinoides podria ser beneficiós pel pacient.

En segon lloc, mitjançant una sèrie d'experiments amb ratolins adolescents realitzats a l'IMIM, he pogut observar que el consum de THC està relacionat amb un dèficit de memòria i una alteració de la conducta, ambdós efectes més pronunciats en mascles, possiblement degut a una hipotètica activació de vies antioxidants en femelles que no es dona en mascles, que explicaria l'augment de l'enzim catalasa en femelles i la disminució de la peroxidació lipídica en aquestes. A més, durant els dies de realització d'aquests experiments, he tingut l'oportunitat de visitar les instal·lacions de l'IMIM i saber com es treballa en un laboratori professional.

Per últim, també he elaborat una enquesta. D'una banda, he estat capaç d'analitzar la percepció de risc de la població envers aquesta droga. Tenint en compte els resultats obtinguts, sembla que la majoria de la població, independentment de l'edat i el nivell d'estudis, és conscient del fet que el consum de cànnabis de manera prolongada i regular pot derivar en problemes de salut a llarg termini (fins i tot, sorprenentment, aquells que en són consumidors habituals), però pensa que és necessari un consum diari perquè apareguin. Tanmateix, els adults i les persones amb només estudis primaris han demostrat tenir menys coneixença respecte a la varietat de possibles problemes i és també entre aquests grups on

hi hauria una lleugera tendència a creure que és difícil que el consum pugui ser la causa de futurs problemes, independentment de la freqüència.

Per altra banda, he pogut establir que la presència de consumidors/exconsumidors a l'entorn dels enquestats podria estar relacionat amb el consum de la següent manera: els enquestats que presenten relacions d'amistat amb consumidors serien els més propensos a consumir cànnabis alguna vegada, mentre que aquelles persones amb familiars consumidors/exconsumidors són els que presenten una freqüència de consum més elevada. A més, aquesta enquesta també m'ha permès comparar els resultats obtinguts a partir dels experiments amb les respostes obtingudes de la població, a part de donar resposta a algunes preguntes d'interès personal relacionades amb el tema. No obstant, cal destacar que tant en els experiments com en l'enquesta, seria necessària una mostra més representativa de subjectes per tal de minimitzar possibles errors de mostreig.

Pel que fa als inconvenients que he hagut d'afrontar, la normativa de l'IMIM, la qual impedeix l'entrada a personal no qualificat a l'espai on tenen els ratolins amb els quals es realitzen els experiments, em va dificultar el plantejament de la part pràctica inicialment. Tot i això, gràcies a l'ajuda de la investigadora Carla Ramon, que em va proporcionar els vídeos que s'enregistren durant les proves, vaig poder complir els meus objectius sense problemes.

Una complicació afegida ha estat el mostreig de l'enquesta, ja que a causa del tema tractat no em va ser possible passar-la a les classes d'ESO a través de l'institut i per aquesta raó no he obtingut tantes respostes per part d'adolescents com m'hagués agradat. Una altra qüestió que em creava una mica d'inseguretats al principi quan vaig escollir el tema, va ser la por a no tenir suficients coneixements bioquímics per a poder entendre els diferents passos a seguir durant els experiments. Finalment, però, la complexitat no va resultar ser un impediment, en part gràcies a l'ajuda de l'Arnau Busquets i la Carla Ramon, que em van poder resoldre qualsevol dubte que pogués tenir.

En l'àmbit personal, la realització d'aquest treball de recerca, m'ha servit per a millorar les meves capacitats digitals a l'hora de crear una enquesta amb Google Forms i buidar-la adequadament. Paral·lelament, m'ha presentat l'oportunitat d'experimentar de primera mà

com és treballar en l'àmbit de la investigació, que tot i semblar-me d'allò més interessant, m'ha servit per descartar aquesta opció com a possible professió a la qual dedicar-me en un futur, principalment degut a la monotonia de la feina i la possible frustració al no aconseguir resultats favorables després del temps emprat a la investigació. De totes maneres, aquesta estada no només m'ha aportat nous coneixements pel que fa a tècniques de laboratori, també ha resultat ser enriquidora a nivell personal, permetent-me conversar amb diversos professionals de l'àmbit.

Una ampliació del meu treball podria ser fer una investigació més precisa i amb resultats més significatius dels efectes del THC al cervell, especialment en femelles i no tan sols en models animals, també en humans. Crec que estudiant els efectes que aquesta substància provoca al nostre organisme es podrien millorar les aplicacions mèdiques del cànnabis que, com s'ha mencionat al cos del treball, pot arribar a esdevenir una opció més segura i recomanable en determinats pacients.

Per acabar, estic molt satisfeta d'haver escollit aquest tema perquè he pogut ampliar en gran mesura els meus coneixements sobre aquesta droga que avui en dia està molt present a la nostra societat, especialment entre els adolescents. Durant aquesta etapa, tal com han destacat els dos professionals entrevistats, és quan més perill hi ha de patir problemes de salut mental en un futur degut a que el cervell està en ple desenvolupament. Per aquesta raó, penso que seria necessària una major difusió sobre les possibles conseqüències perjudicials del seu consum i crec que el meu treball podria ser d'ajuda.

WEBGRAFIA

ABC. (12/07/2018). El cannabis causa trastornos mentales como depresión y ansiedad

además de esquizofrenia. *ABCandalucía*. Consultat el 20/10/2021. Disponible a:

https://sevilla.abc.es/andalucia/sevi-cannabis-causa-trastornos-mentales-como-depresion-y-ansiedad-ademas-esquizofrenia-201807121405_noticia.html?ref=https%3A%2F%2Fsevilla.abc.es%2Fandalucia%2Fsevi-cannabis-causa-trastornos-mentales-como-depresion-y-ansied

Amelunge, M. L. (2017). El consumo de marihuana y su relación con los trastornos mentales.

Revista de estudiantes de psicología, 5, 45-50. Consultat el 20/10/2021. Disponible a:

<https://www.upsa.edu.bo/images/5-revista-psico-estudiantes.pdf#page=45>

BioRoth. (2019). *Protocolo #001: qRT-PCR, SYBR Green y Sondas Taqman* [Vídeo de Youtube].

Youtube. Consultat el 6/09/2021. Disponible a:

https://www.youtube.com/watch?v=tWIk6HsbM_8

Busquets, A. (2013). *Targeting the Endocannabinoid System for Therapeutic Purposes* [Tesi doctoral]. Universitat Pompeu Fabra.

CCMA. (3/12/2020). L'ONU reconeix les propietats medicinals del cànnabis. *Notícies*.

Consultat el 3/11/2021. Disponible a:

<https://www.ccma.cat/324/lonu-reconeix-les-propietats-medicinals-del-cannabis/noticia/3063776/>

Farré, M., Abanades, S. Aspectos psiquiátricos del consumo de cannabis. SEIC. Consultat el

26/05/2021. Disponible a:

<https://www.seic.es/wp-content/uploads/2013/10/aspectos-psiquiatricos-consumo-cannabis.pdf>

Fundación CANNA. El sistema endocannabinoide. *Fundación CANNA*. Consultat el

22/05/2021. Disponible a:

<https://www.fundacion-canna.es/ca/el-sistema-endocannabinoide>

García-Allen, J. Tipos de memoria: ¿cómo almacena los recuerdos el cerebro humano?

Psicología y Mente. Consultat el 23/05/2021. Disponible a

<https://psicologiymente.com/psicologia/tipos-de-memoria>

Guzmán, M. (2019). Aplicaciones terapéuticas del cannabis y los cannabinoides

(*Observatorio Español de Cannabis Medicinal ed.*) [vídeo online]. YouTube. Consultat

el 18/05/2021. Disponible a:

<https://www.youtube.com/watch?v=C813YcAkrR4&t=364s>

Guzmán, M. (24/03/2020). Introducción al cannabis medicinal y los cannabinoides por

Manuel Guzman [vídeo online]. Youtube. Consultat el 18/05/2021. Disponible a:

<https://www.youtube.com/watch?v=uv-Qou9CXX4>

Hemps Pharma. El sistema endocannabinoide. Consultat el 22/05/2021. Disponible a:

<https://hempspharma.com/que-es-el-sistema-endocannabinoide/>

I.U. Investigación en Neuroquímica. (2019, 02 12). *Cannabis Medicinal*. [vídeo online].

YouTube. Consultat el 25/08/2021. Disponible a:

<https://www.youtube.com/watch?v=xNpyLDZTc4A>

Kalapa Clinic. (n.d.). El sistema endocannabinoide. Consultat el 24/05/2021. Disponible a:

<https://www.kalapa-clinic.com/sistema-endocannabinoide/>

MEDCAN. (n.d.). *Medical Cannabis*. Consultat el 18/09/2021. Disponible a:

<https://medcan.es/ca/cbd-medicinal/>

National Institute on Drug Abuse. (4/06/2020). ¿Cuáles son los efectos a largo plazo de la

marihuana en el cerebro? *NIDA*. Consultat el 23/05/2021. Disponible a:

<https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/cuales-son-los-efectos-largo-plazo-de-la-marihuana-en-el-cerebro>

National Institute on Drug Abuse. (12/06/2020). ¿Existe una conexión entre el consumo de marihuana y los trastornos psiquiátricos? *NIDA*. Consultat el 19/09/2021. Disponible a:

<https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/existe-una-conexion-entre-el-consumo-de-marihuana-y-los-trastornos-psiquiatricos>

National Institute on Drug Abuse. (4/07/2020). ¿Qué efectos tiene la marihuana? *NIDA*.

Consultat el 18/05/2021. Disponible a:

<https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/que-efectos-tiene-la-marihuana>

National Institute on Drug Abuse. (1/04/2021). ¿Cómo produce sus efectos la marihuana?

NIDA. Consultat el 22/05/2021. Disponible a:

<https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/como-produce-sus-efectos-la-marihuana>

NIDA. (2020). ¿La marihuana es segura y eficaz como medicina? *National Institute on Drug Abuse*. Consultat el 25/08/2021. Disponible a:

<https://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/la-marihuana-es-segura-y-eficaz-como-medicina>

Quiroga, M. (2000). *Monografía Cannabis* (Vol. 12).

[https://www.uv.es/choliz/Cannabis%20\(PND\).pdf](https://www.uv.es/choliz/Cannabis%20(PND).pdf)

Ramos Atance, J. A., Rubio Gomez, M., & Miguel Fernández, R. Aspectos psiquiátricos del consumo de cannabis. *SEIC*. Consultat el 23/05/2021. Disponible a:

<https://www.seic.es/wp-content/uploads/2013/10/aspectos-psiquiatricos-consumo-cannabis.pdf>

Robles Orozco, G. (2000). Monografía Cannabis (Vol. 12). *Adicciones*. Consultat el 16/05/2021. Disponible a: [https://www.uv.es/choliz/Cannabis%20\(PND\).pdf](https://www.uv.es/choliz/Cannabis%20(PND).pdf)

Sanitas. (n.d.). Estrés oxidativo. *Sanitas*. Consultat l'11/10/2021. Disponible a: <https://www.sanitas.es/sanitas/seguros/es/particulares/biblioteca-de-salud/estilo-vida/estres-oxidativo.html>

Schwertschlag, C. (17/02/2020). ¿Qué es el CBD? Historia, beneficios y propiedades. *The Beemine Lab*. Consultat el 22/05/2021. Disponible a: <https://thebeeminelab.com/que-es-el-cbd/>

Schwertschlag, C. (2020). Qué es y cómo funciona el sistema endocannabinoide. *The Beemine Lab*. Consultat el 21/05/2021. Disponible a: https://thebeeminelab.com/el-sistema-endocannabinoide/#A_que_factores_afecta_el_ECS

Schwertschlag, C. (2020). ¿Cuál es la mejor forma de usar CBD para ti?. *The Beemine Lab*. Consultat el 22/05/2021. Disponible a: <https://thebeeminelab.com/la-mejor-forma-de-usar-cbd/>

Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. (n.d.). Actualización sobre el potencial terapéutico de los cannabinoides. *SEIC*. Consultat el 23/08/2021. Disponible a: <https://www.seic.es/wp-content/uploads/2013/10/actualizacion-potencial-terapeutico-cannab.pdf>

Velasco, G. (n.d.). *Cannabis y cáncer*. *Fundación CANNA*. Consultat el 23/09/2021. Disponible a: <https://www.fundacion-canna.es/cannabis-y-cancer>

Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure. (2021). *Memòria (psicologia)*. Consultat el 23/05/2021.

Disponible a: [https://ca.wikipedia.org/wiki/Memòria_\(psicologia\)](https://ca.wikipedia.org/wiki/Memòria_(psicologia))

Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure. (2021). Ratolí de laboratori. Consultat el 24/05/2021.

Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Ratol%C3%AD_de_laboratori

Wikipedia, la enciclopedia libre. (2021). Cannabis Sativa. Consultat el 16/05/2021.

Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Cannabis_sativa

ÍNDIX D'IMATGES

Portada. <https://cultivadordeestrelas.org/wp-content/uploads/2019/12/image-1.jpg>

Figura 1. Fulla de cànnabis.

<https://i.pinimg.com/236x/05/84/17/058417c7a252fadaac0c550369084057.jpg>

Figura 2. Components principals del cannabis sativa.

<https://soferabogados.com/wp-content/uploads/diferencias-thc-cbd.jpg>

Figura 3. Estructura del THC.

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/4c/Tetrahydrocannabinol.svg/1200px-Tetrahydrocannabinol.svg.png>

Figura 4. Parts del cervell afectades pel THC.

<https://www.drugabuse.gov/sites/default/files/2020-05/efectos3.gif>

Figura 5. Estructura del cannabidiol.

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e6/Cannabidiol_Structural_formula_V1.svg/1200px-Cannabidiol_Structural_formula_V1.svg.png

Figura 6. Ús tòpic del CBD.

<https://smoda.elpais.com/wp-content/uploads/2020/06/portada-hemp-591x447.jpg>

Figura 7. Funcions del sistema endocannabinoide.

https://mk0beeminefarmyd296q.kinstacdn.com/wp-content/uploads/2020/04/GRAFICO_-_Que-controla-y-regula-el-Sistema-Endocannabinoide1.jpg

Figura 8. Funcionament del sistema endocannabinoide.

https://mk0beeminefarmyd296q.kinstacdn.com/wp-content/uploads/2020/04/GRAFICO_-_Como-funciona-el-Sistema-Endocannabinoide1.jpg

Figura 9. Similitud entre estructures d'anandamida i THC.

https://www.drugabuse.gov/sites/default/files/styles/content_image_medium/public/andamide.gif?itok=62Lg1PmJ

Figura 10. Parts del cervell amb receptors CB1.

https://mk0beeminefarmyd296q.kinstacdn.com/wp-content/uploads/2020/04/GRAFICO_-_Partes-del-cerebro-de-receptor-cannabinoide-CB11.jpg

Figura 11. Ubicació dels receptors CB1 i CB2 a l'organisme.

https://hempspharma.com/wp-content/uploads/2020/08/Sistema-Endocannabinoide_Hemps-Pharma-1.jpg

Figura 12. *Marinol*.

<https://www.royalqueenseeds.es/blog-que-es-el-marinol-y-en-que-se-diferencia-de-la-marihuana-n579>

Figura 13. Presència tumoral al cervell d'un ratolí. Extreta d'una presentació de l'Arnau Busquets.

Figura 14. *Sativex*, components i resultats assaig clínic.

<https://www.semillas-de-marihuana.com/blog/sativex-marihuana-inhalada-para-la-esclerosis-multiple/>

Figura 15. Prova de reconeixement d'objectes. Font pròpia.

Figura 16. Càlcul de l'índex de discriminació. Extreta d'una presentació de l'Arnau Busquets.

Figura 17. Captura dels vídeos d'anàlisi de comportament. Font pròpia.

Figura 18. Mostres de cervell de ratolí. Font pròpia.

Figura 19. *Douncers*.

<https://www.carlroth.com/com/en/homogenisers/homogenisers-dounce/p/cxe2.1>

Figura 20. Aïllament d'ARN. Font pròpia.

Figura 21. Aïllament d'ARN. Font pròpia.

Figura 22. Aïllament d'ARN. Font pròpia.

Figura 23. Kit de peroxidació lipídica. Font pròpia.

Gràfics i Taules. Font pròpia

ANNEXOS

ANNEX I: PROTOCOL EXPERIMENT III - AÏLLAMENT ARN

RNA ISOLATION (PAGE 19 MANUAL RNeasy Lipid Tissue Mini Kit)

- Preparation buffers and material: QIAzol Lysis Reagent, Chloroform and RPE.

Label two intermediate 1.5mL tubes (to transfer the homogenate with the needle and to transfer the aqueous supernatant)

*RPE: Before using for the first time, add 4 volumes of ethanol 96-100% to the commercial bottle.

- From here, everything will be done under the hood (for the smell and toxicity of QIAzol and chloroform) and at Room Temperature (RT) (~20-25°C).

- 1) Add the QIAzol Lysis Reagent in the Douncer.
- 2) Add the sample (kept at -80°C on dry ice until now).
- 3) Homogenize them: 20 times Loose + 20 time Tight.
- 4) Pass the homogenate 5 times through a 20G needle (yellow big ones) and recover the homogenate in a new 1.5 mL tube.
- 5) Incubate the homogenate at RT for 5 min.
- 6) Add 200µL chloroform and shake vigorously by hand for 15 seconds.
- 7) Incubate samples at RT for 2-3 min.
- 8) Centrifuge at 12.000 RCF ($x g$) for 15 min at 4°C.
- 9) Transfer the supernatant, the aqueous phase, to a new 1.5 mL tube. Be careful to avoid the interphase. ** Moreover, transfer 50uL of the organic phase to a new tube labelled as "LIPID" and the rest of the organic phase to a new tube labelled as "PROTEIN".
- 10) Add 1 volume (the same amount of the aqueous phase) of 70% ethanol and vortex them during 5 seconds. Do not centrifuge.
- 11) Transfer this mix to a RNeasy spin-column (pink) placed in a 2 mL collection tube. ***Maximum volume up to 700 µL.
- 12) Centrifuge 15 sec. at 8000 RCF ($x g$). Discard liquid (reuse collection tube).

13) **If the sample exceeds 700 µL, repeat steps 11 and 12 with the rest of the lysate that remains in the same spin column, respectively.

14) Add 700 µL of RW1 into the spin column. Centrifuge 15 sec. at 8000 RCF ($x g$).
Discard liquid (reuse collection tube).

15) Add 500 µL of RPE into the spin column. Centrifuge 15 sec. at 8000 RCF ($x g$).
Discard liquid (reuse collection tube).

16) Add 500 µL of RPE into the spin column. Centrifuge 2 min. at 8000 RCF ($x g$).
Discard liquid (centrifugation is longer to remove any ethanol residue).

17) Place the RNeasy column in a new 1.5mL tube labelled as RNA.

18) Add 30-50 µL of RNase-free water. ** We usually add 30uL.

19) Centrifuge 1 min. at 8000 RCF ($x g$) to elute the RNA into the tube.

***If the expected RNA yield is $>30 \mu g$, repeat the step 16 adding 30 µL of RNase- free water→Labelled as RNA2.

CRD/LVP May 2021

ANNEX II: PROTOCOL EXPERIMENT III - KIT DE PEROXIDACIÓ LIPÍDICA

LIPID PEROXIDATION ASSAY KIT

Preparation Instructions

Briefly centrifuge vials before opening. To maintain reagent integrity, avoid repeated freeze/thaw cycles. Use ultrapure water for the preparation of all reagents. Allow all components to come to room temperature before starting.

- **TBA Solution** – Reconstitute a bottle with 7.5 mL of Glacial Acetic Acid, then adjust the final volume to 25 mL with water. Sonication can be used to assist dissolution if necessary. **Store at 4 °C and use within 1 week of preparation.**

Storage/Stability

The kit is shipped on wet ice. Storage at –20 °C, protected from light, is recommended.

Procedure

All samples and standards should be **run in duplicate**. Use ultrapure water for the preparation of all standards and samples.

MDA Standards for Colorimetric Detection

1. Dilute 10 µL of the 4.17 M MDA Standard Solution with 407 µL of water to prepare a 0.1 M MDA Standard Solution.
2. Further dilute 20 µL of the 0.1 M MDA Standard Solution with 980 µL of water to prepare a 2 mM MDA Standard.
3. Add 0, 2, 4, 6, 8, and 10 µL of the 2 mM MDA Standard Solution into separate eppendorfs, generating 0 (blank), 4, 8, 12, 16, and 20 nmole standards.
4. Add water to each tube to bring the volume to 200 µL (200, 198, 196, 194, 192, 190 µL of water).

Sample Preparation

1. Tissue (10 mg) can be homogenized on ice in 300 µL of the MDA Lysis Buffer containing 3 µL of BHT (100x). Centrifuge the samples at **13,000 x g for 10 minutes** to

remove insoluble material. *Alternatively, protein can be precipitated by homogenizing 10 mg of sample in 150 μ L of water containing 3 μ L of BHT (100x) and adding 1 volume of 2 N perchloric acid, vortexing, and centrifuging to remove precipitated protein.*

2. Place 200 μ L of the supernatant from each homogenized sample into an Eppendorf.

Assay Reaction

1. To form the MDA-TBA adduct, add 600 μ L of the TBA solution into each vial containing standard and sample. **Incubate at 95 °C for 60 minutes.**
2. Cool to room temperature in an **ice bath for 10 minutes.**
3. Pipette 200 μ L from each reaction mixture into a 96 well plate for analysis.
 - a. *Notes: To enhance sensitivity, one can add 300 μ L of 1-butanol to extract the MDA-TBA adduct from the 800 μ L reaction mixture.*
 - b. *If separation does not occur, add 100 μ L of 5 M NaCl and vortex vigorously. Centrifuge at 16,000 x g for 3 minutes at room temperature to separate the layers. Transfer the 1-butanol layer (the top layer) to another tube, and evaporate the 1-butanol. The 1-butanol can be removed either by freeze-drying, or heating on a hot block at 55 °C. Dissolve the residue containing the MDA-TBA adduct in 200 μ L of water, and then transfer to a 96 well plate for analysis.*
4. For colorimetric assays, measure the absorbance at 532 nm (A532).

ANNEX III: ENTREVISTA A EDUARD CAMA

Els trastorns mentals com a possible conseqüència del consum de cànnabis ha estat un dels problemes més mencionats a les respostes de l'enquesta realitzada a la població. Al llarg dels teus anys com a professional de la psiquiatria creus que els trastorns mentals són realment un dels problemes més freqüents a causa del consum d'aquesta droga? Consideres que n'hi ha d'altres de més rellevants?

“La relació entre problemes de salut mental i cànnabis és evident i hi ha múltiple literatura científica que ens ho demostra. La visió que hi ha a la nostra societat sobre el cànnabis (moltes vegades considerada una droga suau) i la falta d'educació de la població adolescent-inici d'edat adulta al respecte, fan que no hi hagi una suficient conscienciació sobre la problemàtica que pot comportar.

Els trastorns mentals són uns dels problemes més freqüents a causa del consum de cànnabis però altres possibles conflictes com serien problemes legals per la seva compra-venda (a dia d'avui és una droga il·legal) i la problemàtica mèdica que pot ocasionar (pulmonar, cardiovascular,...), serien problemes sense cap mena de dubte a tenir en compte.”

Els resultats obtinguts a l'enquesta sobre la presència de persones consumidores entre els enquestats m'ha permès arribar a aquesta conclusió: les persones que tenen amics consumidors/exconsumidors són les més propenses a consumir-ne (almenys una vegada) i les que tenen algun familiar consumidor tendeixen a consumir-ne més sovint i, per tant, presenten un major risc a desenvolupar patologies. Segons la teva experiència, diries que la presència de persones consumidores o exconsumidores de cànnabis a l'entorn és un factor que determina el consum?

“Com amb qualsevol tipus de tòxic de consum recreatiu, el fet d'estar exposat i veure de forma recurrent consum al teu voltant, fa que es pugui arribar a normalitzar el consum d'una substància que pot arribar a ser nociva pel nostre organisme (això és molt evident per exemple en el cas del tabac o l'alcohol).

És per això que, en la meua opinió, sense dubte el fet de tenir amics o familiars consumidors fa que sigui més probable i més freqüent el consum. Tot això, sumat a la consideració d'una part de la societat del cànnabis com una droga suau fa que el risc d'iniciar-ne el consum sigui elevat.

En edats com l'adolescència-inici d'edat adulta (on es busquen sensacions noves o s'intenten suplir malestars interns que no es saben gestionar per una falta de maduresa) és on observarem el major risc d'iniciar el consum de cànnabis amb finalitat recreativa. I evidentment, si ens relacionem amb un entorn consumidor, aquest risc augmentarà."

Quins són els principals trastorns mentals associats al consum d'aquesta droga?

"On trobem més evidència és en els trastorns psicòtics (el trastorn per excel·lència dins aquesta categoria de diagnòstics seria l'esquizofrènia paranoide). En gent que té una predisposició biològica-genètica de patir el trastorn, el fet de consumir cànnabis (sobretot durant l'adolescència) afavoreix el desenvolupament del trastorn, fa que aquest debuti a edat més primària i fa que l'evolució clínica sigui pitjor.

Per altra banda, la predisposició de qualsevol individu a patir un trastorn d'ansietat, trastorns del son o un trastorn de l'estat d'ànim (com seria la depressió o el trastorn bipolar) també augmentarà en el cas que hi hagi un consum de cànnabis associat. De la mateixa manera que en l'exemple anterior, l'evolució clínica i la resposta al tractament també seran pitjors en cas que hi hagi consum actiu.

A part del que ens diuen els estudis científics, la pràctica clínica de visitar de forma repetida gent amb problemàtica de salut mental, m'ha fet comprovar de forma rotunda, que qualsevol problemàtica de salut mental evoluciona pitjor, respon pitjor al tractament i provoca major malestar personal en el cas que hi hagi consum de qualsevol tòxic (inclòs el cànnabis).

I finalment, destacaria els efectes que provoquen el consum crònic, diari de cànnabis. S'observa en un percentatge elevat el que es denomina síndrome amotivacional. Es

caracteritza per la presència de clínica amb marcada apatia, falta de motivació i dificultats en concentració i planificació que tendeix a cronificar-se i a respondre pobrament al tractament.”

Existeixen fàrmacs per a pal·liar els efectes del consum de cànnabis relacionats amb els trastorns psiquiàtrics?

“El dany que genera el consum de cànnabis en el neurodesenvolupament cerebral (repeteix que sobretot en l'adolescència-inici edat adulta) no es pot revertir amb tractament farmacològic. Aquest dany en neurodesenvolupament pot afavorir l'aparició de simptomatologia psiquiàtrica i és llavors quan realitzarem tractament per intentar atenuar i fer desaparèixer aquesta simptomatologia. El tractament serà simptomàtic segons el tipus de clínica que aparegui (antipsicòtics, antidepressius, ansiolítics segons quin símptoma es presenti).

Per resumir-ho, podem tractar la clínica que aparegui, però no podem evitar farmacològicament el dany que provoca el consum al nostre sistema nerviós, que a la vegada afavorirà que puguin desenvolupar-se i debutar els diferents trastorns mentals que hem explicat anteriorment.”

Com seria el tractament de desintoxicació a seguir per a una persona addicta al cànnabis?

“Primer de tot hem de valorar si a part del problema d'abús al cànnabis, hi ha algun problema de salut mental. Si hi ha un trastorn depressiu, un trastorn d'ansietat, un insomni o un trastorn psicòtic, el primer que haurem de fer és estabilitzar el quadre clínic per després passar a pensar en desintoxicar. No és el mateix quan un individu consumeix cànnabis per frenar ansietat que quan consumeix per poder dormir. Poder valorar els símptomes clínics que hi hagi és imprescindible per poder aconseguir l'abandonament del consum.

A part de tractar els possibles trastorns que es presentin associats al consum, el tractament de desintoxicació es basaria en ajudar a frenar l'ansietat i/o dificultats del son que es poden presentar quan parem el consum de cànnabis.

Existeix farmacologia que ajuda a evitar l'aparició o a millorar els símptomes, però com en qualsevol droga, la base per poder pensar en desintoxicar-se és la de tenir consciència del problema i presentar una motivació màxima. Desintoxicar és relativament fàcil tractant farmacològicament símptomes que pugui aparèixer. El que és més complicat és deshabituar-se i seguir el camí vital sense recaure en consums (això no es tracta farmacològicament sinó que amb abordatge psicològic s'ha d'intentar mantenir la voluntat màxima de mantenir-se abstinent.”

Creus que consumir durant l'adolescència genera més probabilitats de patir un trastorn mental?

“Sense cap mena de dubte. L'adolescència és el moment crucial en el neurodesenvolupament. Hem de pensar que des de que es forma l'embrió, el sistema nerviós s'està formant, creant milions de connexions cel·lulars, creant una sèrie de circuits que són els que ens permetran raonar, preveure, pensar, recordar...

Una agressió externa com pot ser el consum de cànnabis pot fer que aquestes connexions es vegin alterades i d'aquesta manera augmenti la predisposició a patir qualsevol forma de trastorn mental. En aquesta formació de connexions i circuits, l'adolescència és un dels moments més importants, pel que el consum durant aquesta època vital augmenta de forma exponencial el risc a tenir problemes de salut mental.”

Què en penses sobre l'ús del cànnabis amb finalitats terapèutiques?

“Totalment a favor. De forma regulada, sabent quina és la composició que s'administra i sabent quins són els beneficis que ens pot aportar. Habitualment utilitzem fàrmacs que són derivats de drogues d'abús (estimulants que deriven de l'amfetamina, la morfina que és un derivat de l'heroïna,...) i sabem que ben utilitzats són una arma potent per tractar diversos tipus de problemàtiques mèdiques.

I de la mateixa manera que en el cas d'aquestes altres drogues, el cànnabis pot tenir un paper important en l'abordatge d'altres tipus de patologies. Cal regular-ho i comercialitzar-ho de forma ordenada i coordinada perquè tothom es pugui beneficiar dels seus efectes beneficiosos.”

ANNEX IV: ENTREVISTA A ARNAU BUSQUETS

Pel que fa als experiments que vam realitzar a l'IMIM amb ratolins adolescents, creus que els resultats s'ajusten als que va obtenir vosaltres al estudiar amb ratolins adults?

“Utilitzant el ratolí com a model animal, tant els nostres estudis previs com altres treballs publicats han demostrat que l'administració de THC (el compost psicoactiu del cànnabis) té efectes en memòria, i específicament, utilitzant el test de reconeixement d'objectes. La majoria d'aquests treballs estant fets en mascles i per tant els resultats observats en mascles adolescents són similars al que hem vist en mascles adults. El tema dels efectes en femelles s'ha estudiat molt menys, tot i així i encara que no sabem el perquè, sembla que les femelles són menys sensibles als efectes cognitius del THC tal i com s'ha vist en els resultats d'aquest treball. Per últim, els efectes en activitat que s'observen en ratolins adolescents també es veuen en ratolins adults i demostra l'afectació motora que produeix el cànnabis.”

En el meu treball, i fruit dels resultats en la investigació amb ratolins i de les respostes de les persones enquestades, a mode de conclusió resolc que l'activació d'unes vies antioxidants en femelles després de consumir THC podria ser la raó per la qual el consum de cànnabis afecta més intensament els mascles que les femelles. Creus que és una hipòtesi encertada?

“Sí, dels experiments realitzats durant aquest treball de recerca és una de les preguntes que queda oberta i que és una hipòtesis vàlida. En el cervell, existeixen diferents mecanismes de protecció per fer front a l'estrès oxidatiu i s'ha demostrat que un d'aquests sistemes de protecció podria ser el sistema endocannabinoide que és la diana del cànnabis. A més, altres estudis han demostrat una relació entre estrès oxidatiu i problemes cognitius. És per tot això que la hipòtesis és vàlida tot i que caldrà experiments addicionals per tal de veure si l'estrès oxidatiu està darrera dels efectes del cànnabis en memòria o bé darrera de la protecció que tenen les femelles.”

Podríem dir que els resultats obtinguts en experiments en ratolins serien els mateixos en humans? És a dir, podem assegurar que els efectes que el THC genera en ratolins són els mateixos que provoca en humans?

“Aquesta és una pregunta que tothom fa als investigadors que trobem en ratolins. Òbviament és una molt bona pregunta, la resposta de la qual no és fàcil i m’atreuria a dir que ningú en sap la resposta. Tot i que els ratolins i els humans puguin semblar completament diferents, si ens fixem en el cervell, les dues espècies tenen regions cerebrals molt similars i que s’encarreguen de les mateixes funcions. A més, el ratolí ha estat històricament el model animal que ha estat molt útil en qualsevol investigació preclínica que després ha passat a humans. Tot i això, primer hauríem de confirmar el que hem vist amb ratolins i després veure quines aproximacions es podrien fer en humans per tal de veure si el cànnabis causa el mateix que en els animals. El que si sabem és que el cànnabis afecta memòria i aprenentatge tan en ratolins com en humans.”

Com afecta el consum de cànnabis a l’adolescència? Creus que un consum precoç comporta un major risc de patir efectes perjudicials/danys irreversibles al cervell?

“El cervell humà està en constant desenvolupament fins després de l’adolescència. En aquest sentit el sistema endocannabinoide on actua el cànnabis té un paper clau en aquest desenvolupament i aquesta és la causa principal dels perills del cànnabis durant l’adolescència ja que és un període vulnerable. El fet de consumir cànnabis a l’adolescència, a part de causar efectes coneguts com pèrdua de memòria, afectació motor, efectes en l’estat d’humor, etc, alterarà el desenvolupament correcte del cervell i produirà canvis i alteracions a llarg termini que en casos concrets podrien afavorir malalties neuropsiquiàtriques com l’esquizofrènia.”

Què en penses sobre l’ús del cànnabis amb finalitats terapèutiques?

“Igual que crec que el cànnabis en joves és molt perillós i pot canviar el caràcter i comportament d’una persona, també crec que el cànnabis té propietats terapèutiques molt millors que fàrmacs ja coneguts. En aquest sentit, s’ha demostrat que el cànnabis és un molt

bon analgèsic, és bon anti-emètic (evita vòmits) o protegeix d'espasmes. Per a totes aquestes aplicacions, ja existeixen fàrmacs derivats del cànnabis que estant al mercat i que podem trobar a les farmàcies depenent del país per a combatre dolor crònic, espasmes en esclerosis múltiple o vòmits produïts per quimioteràpia. A més, hi ha treballs científics que demostren que les propietats terapèutiques del cànnabis es podria augmentar per a altres malalties o patologies. El que cal és realitzar molta més recerca per tal d'entendre millor com el cànnabis produeix efectes terapèutics i intentar evitar efectes perjudicials per la salut.”

L'any passat el Consell Europeu de Recerca (ERC) et va concedir el prestigiós *ERC Starting Grant*, una beca europea de 1,5 milions d'euros per al desenvolupament de projectes altament innovadors. Què representa per a tu aquest reconeixement? Quina investigació estàs realitzant?

“Rebre un ajut ERC quan comences la teva carrera investigadora és com un somni fet realitat, que transforma el teu laboratori, et dona uns recursos que mai aconseguiries en un país que de moment no aposta per a la investigació però també et suposa una alta responsabilitat i pressió per tirar endavant el projecte. En aquest projecte volem entendre com el cervell codifica i emmagatzema associacions entre diferents estímuls (visuals, auditius, gustatius, olfactius, etc) per tal d'entendre millor perquè a vegades ens atrau o en repulsa algun lloc, alguna persona o alguna cosa que mai han estat associats a res bo o dolent, respectivament. Es tracta d'entendre com prenem decisions basades en associacions indirectes que el nostre cervell fa constantment i que podrien ser la base de la psicosis.”

ANNEX V. TAULES DE RESULTATS

OBSERVACIÓ COMPORAMENT (EXPERIMENT II)

Mascles Vehicle		Mascles THC	
	Temps immobilitat (seg.)		Temps immobilitat(seg.)
B1	65	B3	150
B2	6	B4	180
C1	25	C3	95
C2	9	C4	247
	26,25		168
Femelles Vehicle		Femelles THC	
D1	155	D3	85
D2	107	D4	310
E1	18	E3	135
E2	8	E4	210
MITJANA	72	MITJANA	185

Mascles Vehicle		Mascles THC	
	Rearings		Rearings
B1	33	B3	34
B2	39	B4	24
C1	23	C3	10
C2	40	C4	13
MITJANA	33,75	MITJANA	20,25
Femelles Vehicle		Femelles THC	
D1	27	D3	14
D2	15	D4	9
E1	43	E3	31
E2	49	E4	19
MITJANA	33,5	MITJANA	18,25

Mascles Vehicle		Mascles THC	
	Diggings		Diggings
B1	72	B3	2
B2	32	B4	16
C1	45	C3	15
C2	31	C4	2
MITJANA	45	MITJANA	8,75
Femelles Vehicle		Femelles THC	
D1	14	D3	17
D2	11	D4	4
E1	42	E3	19
E2	27	E4	6
MITJANA	23,5	MITJANA	11,5

Mascles Vehicle		Mascles THC	
	Crossings		Crossings
B1	24	B3	15
B2	14	B4	13
C1	14	C3	9
C2	12	C4	6
MITJANA	16	MITJANA	10,75
Femelles Vehicle		Femelles THC	
D1	7	D3	8
D2	7	D4	8
E1	11	E3	11
E2	15	E4	12
MITJANA	10	MITJANA	9,75

Mascles Vehicle		Mascles THC	
	Contactes Socials		Contactes socials
B1	14	B3	17
B2	24	B4	16
C1	14	C3	17
C2	20	C4	13
MITJANA	18	MITJANA	15,75

Femelles Vehicle		Femelles THC	
D1	11	D3	10
D2	13	D4	10
E1	9	E3	9
E2	12	E4	9
MITJANA	11,25	MITJANA	9,5

ESTUDI D'EXPRESSION GÈNICA (qRT-PCR) (EXPERIMENT III)

CB1	Mascles	Femelles	
VEH	1,000	1,000	Mitjana
	0,283	0,630	SEM
THC	0,708	0,160	Mitjana
	0,134	0,054	SEM

CATALASA	Mascles	Femelles	
VEH	1,000	1,000	Mitjana
	0,297	0,230	SEM
THC	0,948	5,543	Mitjana
	0,158	2,198	SEM

Resultats complets a:

<https://docs.google.com/spreadsheets/d/1x5crVQDU7KuXsglqCksee3N0nM3uxTZn/edit?usp=sharing&oid=108962428715585202526&rtpof=true&sd=true>

PEROXIDACIÓ LIPÍDICA (EXPERIMENT III)

	Mascles VEH	Mascles THC
Mitjana	206,568	234,66
% control	100	113,5993958
	Femelles VEH	Femelles THC
Mitjana	237,197	196,52
% control	100	82,85096355

Resultats complets a:

<https://docs.google.com/spreadsheets/d/1zX3k2wg5ySKYHsGHLwkQskdjVI5K8Y8/edit?usp=sharing&oid=108962428715585202526&rtpof=true&sd=true>