



MINISTERIO  
DE SANIDAD  
Y POLÍTICA SOCIAL



SECRETARÍA GENERAL DE  
POLÍTICA SOCIAL

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

## ANEXO IV

### JUSTIFICACION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS

#### MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1ª ANUALIDAD

2ª ANUALIDAD

FINAL

Número Expediente: 2009/067

Investigador Principal: FRANCISCO ARIAS HORCAJADAS

Otros Investigadores: D<sup>a</sup> ENRIQUETA OCHOA MANGADO.

-D. JAVIER CORREAS LAUFFER.

-D<sup>a</sup> HELEN DOLENCEVICH SEGAL.

-D<sup>a</sup> DOLORES BAÑO RODRIGO.

-D<sup>a</sup> ROCIO MOLINA.

-D<sup>a</sup> MONICA GARCIA-NIETO RIVERO.

-D<sup>a</sup> CARMEN TOSIO.

D. SERGIO SANCHEZ ROMERO.

D. JOSE RAMON DAVILA PIRIZ.

**Título Proyecto o subproyecto** ESTUDIO DE POSIBLES FACTORES DE VULNERABILIDAD GENÉTICOS PARA LA DEPENDENCIA DE CANNABIS Y DE COCAINA Y PARA LOS TRASTORNOS PSICÓTICOS EN DEPENDIENTES DE CANNABIS

**Título Proyecto coordinado en el que se integra** (Sólo en caso de ser un subproyecto)

**Organismo:**

**Centro:** HOSPITAL UNIVERSITARIO FUNDACION ALCORCON

**Departamento:** PSIQUIATRIA

**Comunidad Autónoma:** MADRID

**Duración:** 1 AÑO

**Fecha de inicio:** 2009

**Fecha de finalización:** 2010

**Año Convocatoria:** 2009

**Área Temática:** 1. Investigaciones sobre comorbilidad y complicaciones derivadas del consumo de cocaína.  
2. Investigaciones sobre determinantes biológicos y culturales del policonsumo de drogas.



**Palabras Clave:** CANNABIS, COCAINA, PSICOSIS POR CANNABIS, GENETICA, CNR1, FAAH, COMT.

**RESUMEN:** (Objetivo, ámbito de estudio, sujetos de estudio, instrumentalización, resultados, conclusiones. Máximo 2.000 palabras.)

Los objetivos del presente proyecto son: 1. Estudiar varios posibles factores de vulnerabilidad genéticos para el desarrollo de psicosis en dependientes de cannabis y para la dependencia de cannabis y cocaína: un polimorfismo caracterizado por diferencias en el número de repeticiones del triplete AAT en el extremo 3' del gen que codifica el receptor CB-1 del sistema cannabinoide; polimorfismo de la enzima amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH), consistente en la sustitución de citosina por adenosina (385C→A) (SNP rs324420); y un polimorfismo de la enzima Catecol-O-Metil Transferasa (Val158Met, SNP rs4680). El objetivo inicial era incluir 200 dependientes de cannabis, 200 dependientes de cannabis con psicosis, 200 sujetos con esquizofrenia sin drogodependencias asociadas excepto tabaco, 200 dependientes de cocaína y 200 controles sanos.

**Material y métodos:** Se realizó una evaluación basal en los centros correspondientes y una extracción sanguínea para el análisis genético en el Departamento de Bioquímica de la Universidad Complutense de Madrid.

Se trata de un estudio de casos y controles de asociación genética entre varios polimorfismos con varios grupos de casos y un grupo control.

Casos de psicosis asociada al consumo de cannabis. Psicosis inducidas por cannabis (F12.5 y F12.75) y esquizofrenia con dependencia de cannabis previa a la aparición de la psicosis (Esquizofrenia-F20, mas criterios de dependencia de cannabis-F12.2).

Casos de dependientes de cannabis sin psicosis (F12.2).

Casos de dependientes de cocaína sin psicosis (F15.2).

Controles de sujetos con esquizofrenia sin drogodependencias asociadas (excepto tabaco), (F20 sin dependencia de drogas asociada, exceptuando tabaco).

Controles de sujetos sanos: 200 sujetos.

La caracterización de los pacientes fue realizada por los distintos investigadores por medio de entrevista clínica según criterios DSM-IV. Todos los investigadores encargados de seleccionar a los sujetos del estudio tienen amplia experiencia clínica en el diagnóstico de trastornos mentales y adictivos.

La inclusión de pacientes se ha realizado entre los años 2009-2010.

Estos pacientes han sido reclutados de dos unidades de agudos de psiquiatría (Hospital Ramón y Cajal, Hospital Universitario Fundación Alcorcón), de la Clínica Nuestra Señora de la Paz que tiene una Unidad de ingreso de patología dual y otra para desintoxicación de cocaína, donde son derivados pacientes de cualquier centro de atención al drogodependiente de Madrid, y de los 4 centros de atención al drogodependiente implicados en el proyecto (Majadahonda, Arganzuela, Vallecas, Alcorcón). Los centros implicados cubren una amplia área de la Comunidad de Madrid con diversidad en cuanto a las condiciones socioeconómicas, por lo que se pueden considerar representativos de la población residente en dicha Comunidad.



Controles de sujetos sanos: Se incluyeron sujetos sin antecedentes psiquiátricos personales ni familiares de primer orden relevantes (esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, dependencia de sustancias excepto tabaco, trastornos del estado de ánimo) ni antecedentes médicos personales o familiares de primer orden de enfermedades que pueden estar relacionados con factores genéticos del sistema cannabinoide o dopaminérgico como obesidad mórbida, demencias o trastornos del movimiento (enfermedad de Parkinson, Corea de Huntington). Los controles proceden de personal administrativo y sanitario de los centros que participan en el proyecto. Dado que este personal en su mayoría reside en la Comunidad de Madrid y que en caso de padecer un trastorno adictivo o psicótico podrían acudir a los centros anteriormente citados, se considera una adecuada población control de sujetos sanos.

Las variables de exposición principales son los polimorfismos AAT(n) del receptor CNR1, A385C del gen FAAH y Val158Met del gen de la COMT. Para el análisis genético se utilizó ADN genómico linfocitario extraído de muestras de sangre de pacientes siguiendo procedimientos estandarizados. Las muestras fueron conservadas a -20°C en los distintos centros implicados y trasladadas al laboratorio del Departamento de Bioquímica de la Universidad Complutense de Madrid para su posterior procesamiento y análisis. El analista realizó el estudio de forma ciega, sin conocer el grupo de los pacientes analizados.

La amplificación del microsatélite (AAT)7-15 se llevó a cabo usando los cebadores (marcados con radioactividad [32P]) 5'-GCTGCTTCTGTTAACCTGC-3' y 5'-TCCCACCTATGAGTGAGAACAT-3'. Los nueve tipos alélicos son identificados en autorradiografías de geles de poliacrilamida tras su separación mediante electroforesis y expuestos sobre una película Kodak X-OMAT. Estos alelos son categorizados de acuerdo a estudios previos publicados en alelos cortos (1 a 4), que contienen de 7 a 10 repeticiones, y alelos largos (5 a 9), que contienen de 11 a 15 repeticiones. Por consiguiente se identifican tres genotipos diferentes (corto/corto, corto/largo y largo/largo) que son analizados como variable cualitativa.

El análisis del polimorfismo A385C del gen FAAH se realiza mediante la amplificación de la región que contiene el polimorfismo con los siguientes cebadores: FAAH A: 5'GGCCAGCCTCCTTTTATCTTATG 3' y FAAH B: 5'GACGATGGAGGCCTGGCGC 3'. Se identifican 3 genotipos diferentes: AA, AC y CC.

El análisis del polimorfismo Val158Met del gen de la COMT se realiza mediante la amplificación de la región que contiene el polimorfismo como ha sido descrito previamente (Diez-Martin et al., 2007). Se identifican 3 genotipos diferentes.

Las variables dependientes son: presencia de psicosis asociada al consumo de cannabis, presencia de dependencia de cannabis, presencia de dependencia de cocaína y de esquizofrenia según criterios DSM-IV.

Otras variables recogidas son: sexo, edad, nivel de estudios, estado civil, situación laboral, antecedentes familiares de psicosis y drogodependencias, historia de consumos de sustancias, edad de inicio en los consumos y de inicio



de la psicosis. Se aplicó en la evaluación basal la Escala de Síntomas Positivos y Negativos (PANSS) (Kay et al., 1987) para valorar los síntomas psicóticos actuales.

Análisis estadístico.

Se evaluó si la distribución de genotipos se ajusta al previsto por el equilibrio de Hardy-Weinberg. Las 9 formas alélicas del triplete de repetición (AAT)<sub>n</sub> son distribuidos de acuerdo con Comings et al. (1997), en un grupo de alelos cortos con menos de 11 repeticiones del triplete (genotipo <5) y otro de alelos largos con  $\geq 11$  repeticiones (genotipo  $\geq 5$ ). Así, los pacientes y controles serán subdivididos en tres grupos de acuerdo a su genotipo como individuos con <5/<5,  $\geq 5/\geq 5$  y <5/ $\geq 5$ , y estos datos se usaran como variable cualitativa. La hipótesis de una asociación entre genotipos y grupo se analizó con la chi-cuadrado de Pearson. La prueba de la t de Student se usó para comparar las diferencias entre medias de variables continuas cuando se asume la normalidad de estas de acuerdo al test de Kolmogorov-Smirnoff. Para las variables continuas donde no se asuma la distribución normal, la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney se utilizó para comparar estas variables clínicas entre subgrupos de pacientes y controles.

Si una asociación entre genotipo y grupo es significativa, un modelo de regresión logística multivariable fue usado para valorar dicha relación controlando por potenciales factores de confusión incluyendo edad, sexo y los otros genotipos.

Resultados:

Grupo control: Se incluyeron 212 controles (126 mujeres y 86 varones), de edad media 37.9 años (d.e.=12.8). Los genotipos más prevalentes fueron: el triplete AAT del gen CNR1 se dividió en alelos largos y cortos según el número de repeticiones del triplete, siendo el genotipo largo/largo el más prevalente (51.4%); del gen de la enzima FAAH el más prevalente fue el CC (62.6%) y de la enzima COMT, el genotipo GA (Val/Met) (50%).

Grupo de dependientes de cocaína: se incluyeron 146 sujetos. La edad media era inferior al grupo control (32.3 años, d.e.= 8.0,  $p<0.001$ ) y predominio masculino (85%,  $p<0.001$  respecto al grupo control). No había diferencias respecto al grupo control en la frecuencia de los genotipos del gen CNR1. Había una tendencia estadística hacia una mayor prevalencia del genotipo CC de la enzima FAAH y del genotipo AA (Met/Met) de la enzima COMT en los dependientes de cocaína. Debido a las diferencias respecto a la composición por edad y sexo, se realizó un análisis multivariante, incluyendo edad, sexo y los genotipos de la FAAH y la COMT. En dicho análisis se observa que los dependientes de cocaína tienen mayor prevalencia del genotipo AA de la enzima COMT (que implica menor actividad de dicha enzima), controlado por otros factores de confusión (chi cuadrado del modelo 54.6,  $P<0.001$ ).

Grupo de dependientes de cannabis: se incluyeron 223 pacientes. El grupo de casos era estadísticamente de menor edad y con mayor predominio de varones que los controles. Se observa una mayor prevalencia del genotipo CC de la enzima FAAH respecto al grupo control ( $p=0.006$ ). Esta diferencia estadísticamente significativa se mantuvo en el análisis multivariante al ajustar por edad y sexo (chi cuadrado del modelo 105.9,  $p$  del modelo  $<0.001$ ).



Grupo de pacientes con esquizofrenia sin dependencia de drogas asociada: se incluyeron 191 pacientes. El grupo de casos era estadísticamente de mayor edad y con mayor predominio de varones que los controles. No se observaron diferencias en los genotipos estudiados.

Grupo de pacientes con psicosis (esquizofrenia o psicosis inducida) y dependencia de cannabis: se incluyeron 154 pacientes. El grupo de casos era estadísticamente de menor edad y con mayor predominio de varones que los controles. Había una mayor prevalencia del genotipo CC de la enzima FAAH en el grupo de casos ( $p=0.02$ ), diferencia que se mantuvo al ajustar por edad y sexo en el análisis multivariante ( $\chi^2$  cuadrado del modelo 99.9,  $p$  del modelo  $<0.001$ ).

En un subgrupo de los casos y controles se analizó un haplotipo del gen CNR1, el denominado TAG (Zhang et al, 2004), no observándose diferencias entre grupos.

Además se analizó el polimorfismo rs2501432 del gen CNR2, que codifica el receptor CB2 del sistema cannabinoide en un subgrupo de controles ( $n=82$ ), sujetos con esquizofrenia no consumidores ( $n=76$ ), psicosis en consumidores de cannabis ( $n=41$ ) y consumidores de cannabis sin psicosis ( $n=17$ ). Observándose diferencias significativas entre el grupo de psicosis en consumidores respecto al grupo control ( $p=0.01$ ).

Conclusiones: Una menor actividad funcional de la enzima COMT (genotipo AA) y, por tanto, mayor actividad dopaminérgica, puede favorecer la dependencia a la cocaína, mientras que una mayor funcionalidad de la enzima FAAH (genotipo CC) que metaboliza los endocannabinoides puede favorecer la dependencia de cannabis y las psicosis asociadas a dicho consumo. Las variantes genéticas estudiadas del gen CNR1 no parecen constituir factores de vulnerabilidad para las patologías estudiadas, sin embargo, pueden ser relevantes variantes genéticas del gen CNR2 para el desarrollo de psicosis en consumidores de cannabis. No hemos detectado que estos genes sean relevantes en la vulnerabilidad para la esquizofrenia en sujetos no adictos.

**ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN:** (Se adjuntarán tres separatas de cada uno de ellos)

No se han publicado aún los resultados. Datos preliminares presentados en "Workshop. The endocannabinoid system: from physiology to pathophysiology". Bonn. 18-19 junio, 2010.

**MODIFICACIONES DE LA METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO SOBRE LOS PROYECTADOS Y SU JUSTIFICACIÓN:**

No se ha conseguido alcanzar el tamaño muestral previsto para el grupo de dependientes de cocaína por la alta presencia de consumo de otras drogas (fundamentalmente alcohol), siendo muy difícil el reclutamiento de pacientes dependientes de cocaína exclusivamente, además la inclusión de pacientes por parte de los centros de atención al drogodependiente fue tardía (en unos casos por retraso en la obtención del permiso del centro, en otro caso por baja laboral prolongada de uno de los investigadores) y se retiró uno de los centros previstos inicialmente, aunque se incorporó al final un centro nuevo. Tampoco



se consiguió la muestra prevista en el grupo de pacientes con psicosis por cannabis, dado que es un trastorno menos prevalente, que son frecuentes también los policonsumos y, por último, por la retirada del proyecto de uno de las Unidades de Agudos prevista (Hospital del Henares). Sin embargo, la muestra obtenida en otros dos grupos fue superior a la prevista inicialmente, además se realizaron análisis genéticos no incluidos en el proyecto inicial, alguno de ellos han ofrecido resultados muy interesantes que conviene replicar (estudio del polimorfismo del gen CNR2).

Cambios en el personal investigador y centros implicados inicialmente: se retiraron del proyecto el Centro de Atención al Drogodependiente de San Sebastián de los Reyes por no obtener el permiso de la dirección del centro y el Hospital del Henares con sus dos investigadores (Dr Correas y Dra Dolengevich) por implicación en otros proyectos que les resultaba incompatible con el proyecto actual. El Centro de Atención al Drogodependiente de Vallecas se incorporó tardíamente por baja laboral prolongada del investigador (Dra Tosio). Debido a estas renunciaciones se solicitó la incorporación de nuevos centros y así se incorporó el Centro de Atención al Drogodependiente de Alcorcón (Dra Angela Doménech), también Laura Hidalgo Martín, DUE del Hospital Rodríguez Lafora, colaboró en la introducción de datos y análisis de los mismos y preparación del póster para el congreso de Bonn. La Clínica Nuestra Señora de la Paz también colaboró en el proyecto como inicialmente estaba previsto (Dr Diego Urgelés), aunque no figura como investigador en el proyecto inicialmente.

**OBJETIVOS PLANTEADOS** :(Transcribir los del proyecto original)

Los objetivos específicos serían los siguientes:

- a) Valorar las diferencias en las frecuencias alélicas de un polimorfismo caracterizado por diferencias en el número de repeticiones del triplete AAT del gen que codifica el receptor CB-1 del sistema cannabinoide endógeno (CNR1);
- b) Valorar las diferencias en las frecuencias alélicas de un polimorfismo de la enzima amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH), consistente en la sustitución de citosina por adenosina (385C-->A);
- c) Valorar las diferencias en las frecuencias alélicas de un polimorfismo genético de la enzima Catecol-O-Metil Transferasa (COMT) (Val158Met, SNP rs4680);

entre dependientes de cannabis con psicosis y sin psicosis, sujetos con esquizofrenia sin drogodependencias asociadas y dependientes de cocaína frente a un grupo control de sujetos sanos.

**OBJETIVOS CONCRETOS ALCANZADOS:** (Ordenar de igual forma que los planteados. En el caso de proyectos coordinados, el coordinador deberá describir además el desarrollo de la coordinación entre subproyectos en este año, y los resultados de dicha coordinación con relación a los objetivos globales del proyecto)



- a) No se objetivan diferencias en las frecuencias alélicas de un polimorfismo caracterizado por diferencias en el número de repeticiones del triplete AAT del gen que codifica el receptor CB-1 del sistema cannabinoide endógeno (CNR1) entre los distintos grupos;
- b) Existen diferencias en las frecuencias de genotipos de un polimorfismo de la enzima amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH), consistente en la sustitución de citosina por adenosina (385C-->A) en dependientes de cannabis y psicóticos consumidores de cannabis;
- c) Existen diferencias en las frecuencias de genotipos de un polimorfismo genético de la enzima Catecol-O-Metil Transferasa (COMT) (Val158Met, SNP rs4680) entre dependientes de cocaína frente a un grupo control de sujetos sanos.

**APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS.** (En caso de memoria final)

Identificar marcadores de vulnerabilidad para el desarrollo de una patología tan severa como las psicosis puede llevar a actuaciones preventivas más efectivas y desarrollar programas educativos más realistas al objetivar el riesgo asociado al consumo, así como ayudar en la comprensión de los mecanismos patogénicos de la psicosis en adictos a drogas. Esto permitiría profundizar en el conocimiento del papel del sistema cannabinoide y dopaminérgico en la aparición de los síntomas psicóticos.

Por otro lado, estudiar la influencia de posibles factores genéticos en la dependencia de cannabis y cocaína nos ayudará a comprender los mecanismos patogénicos de estas y orientar en los programas preventivos que se puedan realizar, así como para el diseño de tratamientos farmacológicos que actúen sobre estas dianas terapéuticas.

**PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE QUE SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO.** (En caso de memoria final)

No procede

**OTRAS SUBVENCIONES O AYUDAS RECIBIDAS PARA ESTE PROYECTO:**

origen, cantidad, en qué se aplica

No procede

**OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR**

En esta fecha se remite también por correo electrónico, a la dirección [pndinvestigación@msps](mailto:pndinvestigación@msps) la presente memoria.



MINISTERIO  
DE SANIDAD  
Y POLÍTICA SOCIAL

SECRETARIA GENERAL DE  
POLITICA SOCIAL

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

En *Madrid* a *15* de *7* de *2010*

FIRMA