



## RESUMEN FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

**EXPEDIENTE:** 2019I024

**TÍTULO DEL PROYECTO:** Consecuencias neurobiológicas en el adulto de la exposición adolescente a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/k2. Estudio en modelos animales considerando diferencias de género.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Fernando Berrendero Díaz

**EQUIPO DE INVESTIGACIÓN (nombre y apellidos del resto del equipo de investigación):**

Inmaculada Pereda Pérez

María Teresa Grande Rodríguez

Marc Ten Blanco

**ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:**

Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria

---

### RESUMEN (1) (2):

El término Spice (también conocido como "K2") hace referencia a un preparado elaborado a base de hierbas a las que se rocía de forma deliberada uno o más cannabinoides sintéticos. El abuso de Spice/K2 se ha popularizado en los últimos años fundamentalmente entre los jóvenes. El fácil acceso, precio asequible, la percepción de que el producto es legal y la dificultad de la detección de estos cannabinoides sintéticos en análisis estandarizados de drogas son factores que han contribuido a la rápida difusión del Spice/K2. Los cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 parecen tener efectos diferentes y marcadamente más tóxicos que los producidos por la marihuana. El consumo precoz de estos cannabinoides produce cambios neurobiológicos que podrían constituir un importante factor de riesgo para el desarrollo de trastornos psiquiátricos en el adulto. El cerebro adolescente se encuentra en un estado de maduración que lo hace más sensible a los efectos tóxicos de estos compuestos. El presente proyecto de investigación, mediante el uso de modelos animales, ha evaluado las consecuencias neurobiológicas en el adulto de la exposición adolescente a dos de los cannabinoides sintéticos que se encuentran con mayor frecuencia en el Spice/K2, el JWH-018 y el AB-FUBINACA. En concreto, se han evaluado dos importantes efectos adversos, la posible desregulación del miedo en relación con trastornos de ansiedad caracterizados por la presencia de miedo patológico (síndrome de estrés postraumático, fobias, etc), y la aparición de comportamientos de tipo psicótico. Se ha analizado también la posible existencia de dimorfismo sexual en estas respuestas y mecanismos neuroquímicos implicados. Los resultados derivados del proyecto ayudarán a profundizar en el conocimiento de los efectos negativos del consumo de cannabinoides sintéticos durante la adolescencia así como en el desarrollo de nuevos abordajes terapéuticos y preventivos para evitar los mismos.

---



---

#### ABSTRACT (English):

The term Spice (also known as “K2”) refers to a preparation made from herbs to which one or more synthetic cannabinoids are deliberately sprayed. The abuse of Spice/K2 has become popular in recent years, mainly among young people. Easy access, affordable price, the perception that the product is legal, and the difficulty of detecting these synthetic cannabinoids in standardized drug tests are factors that have contributed to the rapid spread of Spice/K2. The synthetic cannabinoids present in Spice/K2 appear to have different and markedly more toxic effects than those produced by marijuana. Early consumption of these cannabinoids produces neurobiological changes that could constitute an important risk factor for the development of psychiatric disorders in adults. The adolescent brain is in a state of maturation that makes it more sensitive to the toxic effects of these compounds. The present research project, through the use of animal models, has evaluated the neurobiological consequences in adults of adolescent exposure to two of the synthetic cannabinoids most frequently found in Spice/K2, JWH-018 and AB-FUBINACA. Specifically, two important adverse effects have been evaluated, the possible deregulation of fear in relation to anxiety disorders characterized by the presence of pathological fear (post-traumatic stress syndrome, phobias, etc.), and the appearance of psychotic-type behaviours. The possible existence of sexual dimorphism in these responses and the neurochemical mechanisms involved have been also analyzed. The results derived from the project will help to deepen the knowledge of the negative effects of the consumption of synthetic cannabinoids during adolescence as well as the development of new therapeutic and preventive approaches to avoid them.

#### PALABRAS CLAVE (3):

Spice/k2, cannabis, adolescencia

#### KEY WORDS (English):

Spice/K2, cannabis, adolescence

#### JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:

La hipótesis del presente proyecto de investigación es que la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 durante la adolescencia afecta la correcta regulación de las memorias aversivas e induce comportamientos de tipo psicótico en el adulto. Estos efectos podrían conducir a un mayor riesgo de padecer ciertas patologías psiquiátricas en la edad adulta (síndrome de estrés postraumático, fobias, psicosis, esquizofrenia).

El objetivo general del proyecto es estudiar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 (JWH-018 y AB-FUBINACA) durante la adolescencia en la regulación de las memorias aversivas así como en el desarrollo de comportamientos de tipo psicótico en la edad adulta. Se analizará la posible existencia de diferencias sexuales en estas respuestas. Además, se estudiarán diferentes alteraciones neuroquímicas que se puedan producir como consecuencia de la exposición adolescente a estos cannabinoides. Para ello se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 (JWH-018 y AB-FUBINACA) durante la adolescencia en la consolidación y extinción de las memorias aversivas en el adulto mediante estudios comportamentales. Se utilizarán ratones macho y hembra.
  2. Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 durante la adolescencia en la consolidación y extinción de las memorias aversivas en el adulto mediante estudios neuroquímicos.
-



3. Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 (JWH-018 y AB-FUBINACA) durante la adolescencia en el desarrollo de comportamientos de tipo psicótico en el adulto. Se utilizarán ratones macho y hembra. Se realizarán también estudios neuroquímicos.

#### **METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL PROYECTO. ANALISIS ESTADÍSTICO :**

**Actividad 1.** Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 (JWH-018 y AB-FUBINACA) durante la adolescencia en la consolidación y extinción de las memorias aversivas en el adulto mediante estudios comportamentales.

Se utilizarán ratones macho y hembra C57BL/6J. Los cannabinoides sintéticos JWH-018 y AB-FUBINACA están disponibles en Cayman Chemical (stock nº 10900 y 14039, respectivamente).

**Tratamiento:** Los ratones adolescentes serán tratados con JWH-018 (PND 35-39: 0.5 mg/kg, PND 40-44: 1 mg/kg, and PND 45-49: 1.5 mg/kg) y AB-FUBINACA (PND 35-39: 0.25 mg/kg, PND 40-44: 0.5 mg/kg, and PND 45-49: 1 mg/kg) y sus correspondientes vehículos desde el día PND35 a PND49. El análisis comportamental de estos animales se realizará en época adulta, a partir del día PND70. Estos experimentos se compararán con ratones que sean tratados con cannabinoides sintéticos directamente en el adulto, con el objeto de estudiar la importancia de la adolescencia como una ventana temporal de mayor vulnerabilidad a la exposición de estos compuestos.

**Condicionamiento y extinción al miedo inducido por un estímulo sonoro (“Cue-induced fear conditioning”)**

En este modelo, los ratones deberán relacionar el choque eléctrico (estímulo incondicionado) con un tono acústico (estímulo condicionado) que coincidirá con el final del choque. Cuando los animales se coloquen en otro contexto diferente (cilindros de plexiglás) serán expuestos a la misma señal acústica y se observará una respuesta condicionada al miedo medida en tiempo de congelación. En concreto, el día del entrenamiento, tras 150 segundos de habituación en las cámaras de condicionamiento, los ratones serán expuestos a 3 tonos sonoros (9KHz, 80dB, 8 segundos de duración con un intervalo de 2 segundos entre tonos) que co-terminan con un choque eléctrico (0.7 mA). Las sesiones de extinción se realizarán exponiendo a los animales al tono sonoro, sin la presencia de choque eléctrico, 24, 48, 72 y 96 h tras la sesión de condicionamiento.

Se utilizarán aproximadamente 10 animales por grupo experimental.

**Actividad 2.** Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 durante la adolescencia en la consolidación y extinción de las memorias aversivas en el adulto mediante estudios neuroquímicos.

Para la realización de la actividad 2 se utilizarán en parte animales incluidos en la actividad 1. No obstante, será necesario el tratamiento de nuevos animales para completar todos los estudios previstos. Los estudios bioquímicos a realizar dependerán en gran medida de los resultados comportamentales obtenidos en la actividad 1.

2.1. Se analizará la expresión de c-fos (factor de transcripción temprano considerado como marcador de activación neuronal) mediante inmunofluorescencia.  
Se incluirán entre 6 y 8 animales por grupo experimental.

2.2. Se analizarán los niveles de corticosterona en relación al comportamiento del condicionamiento y extinción del miedo. Para ello se obtendrá sangre de los roedores a diferentes puntos temporales (PND 67 (basal), 30 min después del condicionamiento (PND 72), adquisición



---

del miedo asociado a factores ambientales (PND 74) y extinción del miedo asociado a factores ambientales (PND 78). La sangre se obtendrá a partir de la cola en tubos que contienen ácido etilendiaminotetraacético. Los niveles de corticosterona se analizarán mediante ELISA y detección colorimétrica (kit Abcam, ab108821).

Se incluirán aproximadamente 10 animales por grupo experimental.

2.3. La exposición a cannabinoides sintéticos durante la adolescencia también podría inducir modificaciones en la morfología de las espinas dendríticas en neuronas situadas en estructuras cerebrales clave en la regulación de la consolidación y extinción de las memorias asociadas al miedo. Los cerebros incluidos en este estudio serán perfundidos 2 horas después de la sesión de condicionamiento, o de la última sesión de extinción (como control, se utilizarán animales expuestos al contexto o estímulo sonoro pero no al choque eléctrico). Se obtendrán cortes de corteza prefrontal y amígdala en un vibratomo. Los cortes serán marcados mediante transfección balística con un colorante fluorescente "Dil" utilizando una pistola manual "Gene-Gun". Las imágenes serán analizadas mediante microscopía confocal. Se analizará la densidad total de las espinas dendríticas así como su morfología ("stubby", "mushroom" (espinas maduras) y "long thin" (espinas inmaduras).

Se incluirán entre 6 y 8 animales por grupo experimental.

**Actividad 3. Evaluar el efecto de la exposición a cannabinoides sintéticos presentes en el Spice/K2 (JWH-018 y AB-FUBINACA) durante la adolescencia en el desarrollo de comportamientos de tipo psicótico en el adulto. Se realizarán estudios comportamentales y neuroquímicos.**

Se utilizarán ratones macho y hembra C57BL/6J. Los cannabinoides sintéticos JWH-018 y AB-FUBINACA están disponibles en Cayman Chemical (stock nº 10900 y 14039, respectivamente).

Tratamiento: el tratamiento a realizar será similar al descrito en la actividad 1. En el adulto se analizarán posibles alteraciones comportamentales de tipo psicótico como consecuencia de la exposición adolescente a los cannabinoides sintéticos JWH-018 y AB-FUBINACA. Se utilizará el test de la inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto.

### 3.1. Inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto

El test de inhibición por prepulso (PPI) del reflejo de sobresalto se utiliza tanto en modelos de experimentación animal como en humanos, principalmente en el ámbito de la esquizofrenia. También se emplea para el estudio de trastornos psiquiátricos cuyo denominador común es la alteración de los mecanismos de inhibición sensorimotora, así como aquellos implicados en los procesos atencionales. En este test se evalúa el grado de atenuación del reflejo de sobresalto ante un estímulo auditivo de alta intensidad (pulso) (115-120 dB), cuando éste es precedido por otro estímulo de menor intensidad que no produce ninguna respuesta por sí mismo (prepulso) (75-80 dB). La disminución del PPI en roedores se considera una aproximación válida para el estudio de la neurobiología de la alteración sensorial motora que caracteriza a los pacientes con esquizofrenia. Se incluirán aproximadamente 10 animales por grupo experimental.

3.2. Los estudios bioquímicos a realizar dependerán en gran medida de los resultados comportamentales obtenidos en la actividad 3.1. Se analizarán cambios en la expresión del receptor 5HT<sub>2A</sub>, así como en la vía Akt/mTOR en la corteza cerebral de los animales expuestos a cannabinoides sintéticos o vehículo mediante las técnicas de Western blot, y PCR cuantitativa a tiempo real. Estos receptores y vías de señalización se han relacionado recientemente con el desarrollo de síntomas psicóticos inducidos por el THC.

Se incluirán 6-8 animales por grupo experimental

---



---

### PRINCIPALES RESULTADOS:

Los ratones macho y hembra ganaron menos peso como consecuencia del tratamiento con JWH-018. El JWH-018 indujo un efecto de tipo ansiogénico en machos a corto plazo. Este efecto fue específico del período temprano ya que se recuperaron cuando alcanzaron la edad adulta. Por el contrario, no se observaron diferencias en la ansiedad en ratones hembra a corto plazo, mientras que hubo una clara tendencia ansiogénica a largo plazo. No se observaron cambios en la extinción del miedo ni en ratones macho ni en ratones hembra (tanto a corto como a largo plazo).

De manera interesante, observamos una disminución en la inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto (PPI) en ratones macho, pero no hembra, tanto a corto como a largo plazo debido a la exposición a JWH-018 durante la adolescencia. Modificaciones en el test del PPI, que evalúa el filtrado sensorimotor, se relacionan con alteraciones de tipo psicótico. El mismo protocolo de administración en ratones adultos no produjo cambios en el test del PPI, sugiriendo que la adolescencia es un periodo de especial vulnerabilidad para los efectos inducidos por el JWH-018.

Las redes perineuronales (PNN) son regiones especializadas de la matriz extracelular con importantes funciones, entre ellas, la regulación de la maduración y plasticidad de interneuronas GABAérgicas. De forma interesante, las PNN en la corteza prefrontal están desreguladas en pacientes con esquizofrenia. La alteración en el test del PPI descrita con anterioridad se asoció con una reducción en el número de redes perineuronales en las regiones prelímbica e infralímbica de la corteza prefrontal a corto plazo en los ratones macho. Este descenso en la densidad de PNN podría estar relacionado con las alteraciones en el PPI presentes en estos animales ya que se encontró una correlación entre la densidad de PNN y el porcentaje de PPI en la corteza infralímbica. Además, el porcentaje de neuronas GABAérgicas marcadas con parvalbúmina rodeadas por PNN en la corteza infralímbica tendió a disminuir incluso a largo plazo. La exposición de los ratones macho adolescentes a JWH-018 indujo una activación de microglía y astrocitos en la corteza prefrontal en ambos intervalos de tiempo, corto y largo plazo.

Finalmente, mediante qRT-PCR se analizó la expresión de diferentes genes relacionados con plasticidad sináptica, así como los genes correspondientes a la expresión de los receptores cannabinoides CB1 y CB2, en la corteza prefrontal de los ratones macho adultos expuestos a JWH-018 durante la adolescencia. Se observó una disminución transitoria en la expresión de GAD67 y de los receptores cannabinoides CB2.

En resumen, estos datos muestran cambios conductuales y neurobiológicos importantes y duraderos asociados con el tratamiento con JWH-018 durante la adolescencia. Este estudio tiene profundas implicaciones clínicas y de políticas de salud pública en términos de limitar la exposición de los adolescentes a cannabinoides sintéticos, los cuales pueden ser particularmente neurotóxicos durante ciertas ventanas del desarrollo neurológico.

Todos estos resultados forman parte de un artículo recientemente publicado en la revista *Translational Psychiatry* (Izquierdo-Luengo C, Ten-Blanco M, Ponce-Renilla M, Perezzan R, Pereda-Pérez I, Berrendero F. Adolescent exposure to the Spice/K2 cannabinoid JWH-018 impairs sensorimotor gating and alters cortical perineuronal nets in a sex-dependent manner. *Transl Psychiatry* 13: 176, 2023).

Se ha realizado el estudio con el cannabinoide sintético AB-FUBINACA. Los ratones adolescentes macho y hembra fueron tratados durante 15 días con dosis crecientes de AB-FUBINACA (PND 35-39: 1 mg/kg, PND 40-44: 1.5 mg/kg, y PND 45-49: 2 mg/kg) y sus correspondientes vehículos. Se evaluaron las respuestas comportamentales 20 días tras la finalización del tratamiento

---



---

farmacológico.

Los principales resultados obtenidos se resumen a continuación:

Los ratones macho y hembra ganaron menos peso como consecuencia del tratamiento con AB-FUBINACA. El AB-FUBINACA indujo un efecto de tipo ansiogénico en ratones adultas hembra, pero no en machos. Por el contrario, no se observaron diferencias en la extinción del miedo ni en ratones macho ni hembra como consecuencia de la exposición a AB-FUBINACA durante la adolescencia.

De manera interesante, observamos una disminución en la inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto (PPI) en ratones hembra, pero no macho. Esta disminución en el PPI sugiere alteraciones de tipo psicótico. A diferencia de lo observado en el caso del tratamiento con JWH-018, el mismo protocolo de administración en ratones hembra adultas mantuvo los cambios en el test del PPI, sugiriendo que el tratamiento con AB-FUBINACA altera el PPI independientemente de la edad de exposición a esta droga.

De forma contraria a la exposición a JWH-018, el tratamiento con AB-FUBINACA durante la adolescencia no indujo modificaciones en la morfología de la microglía y de los astrocitos en la corteza prefrontal de los ratones adultos.

Se ha realizado un estudio de transcriptómica (a través de la empresa Macrogen) para estudiar cambios en la expresión génica en la corteza prefrontal en ratones adultos expuestos durante la adolescencia al cannabinoide sintético AB-FUBINACA. Las muestras se obtuvieron 24 horas después del test del PPI (20 días después de la finalización del tratamiento con AB-FUBINACA). El estudio de transcriptómica propuesto puede dar importantes pistas acerca de genes o rutas de señalización implicados en los efectos psicóticos inducidos por el consumo de estos potentes cannabinoides sintéticos. En la actualidad se está completando el análisis bioinformático de todos estos datos a través de la empresa Dreamgenics. En breve dispondremos de los resultados de este estudio.

Todos los datos obtenidos respecto a los efectos en el adulto de la exposición a AB-FUBINACA durante la adolescencia han comenzado a ser preparados para su publicación. Se espera que antes de la finalización de 2023, los resultados obtenidos con AB-FUBINACA hayan sido aceptados en una revista científica internacional de prestigio.

#### DISCUSIÓN:

Nuestros datos muestran que la exposición al cannabinoide Spice/K2 JWH-018 en ratones adolescentes induce consecuencias conductuales a largo plazo que dependen del sexo. En particular, el tratamiento con JWH-018 durante la adolescencia, pero no en la edad adulta, desencadenó alteraciones del PPI del reflejo de sobresalto en ratones macho jóvenes y adultos. Estas alteraciones se asociaron con cambios en la densidad de las redes perineuronales (PNN) y la morfología de la microglía en la corteza prefrontal.

Los resultados adversos asociados con el consumo de cannabinoides sintéticos son distintos de los producidos por la marihuana y notablemente más tóxicos que los producidos por ella. La ansiedad, los ataques de pánico y los síntomas psicóticos se encuentran entre los efectos psiquiátricos perjudiciales más comunes reportados en varios estudios de casos clínicos. Sin embargo, hay poca información sobre las consecuencias neuroquímicas y conductuales de la exposición de los adolescentes a estas drogas. Los trastornos de ansiedad caracterizados por miedo patológico,

---



---

como el trastorno de estrés postraumático y las fobias, se asocian con déficits de extinción de recuerdos aversivos. En nuestras condiciones experimentales, la extinción del miedo no se vio afectada ni en ratones machos ni en hembras por la exposición de los adolescentes al JWH-018. De acuerdo con este resultado, la administración de  $\Delta 9$ -THC durante la adolescencia no alteró la extinción del miedo en ratones adultos machos y hembras (Saravia et al, 2019), aunque se reveló un deterioro de esta respuesta cuando el THC se combinó con exposición al estrés (Saravia et al, 2019).

Un hallazgo fundamental de nuestro estudio fue que la exposición adolescente a JWH-018 induce una reducción del PPI del reflejo de sobresalto a corto y largo plazo en ratones macho, pero no en hembras. En particular, el efecto de JWH-018 dependía de la edad, como lo revela la falta de alteraciones en la prueba del PPI cuando el mismo régimen de administración del fármaco se realizó directamente en la edad adulta. PPI es un modelo preclínico clásico de activación sensorimotora, con alta validez traslacional entre humanos y roedores (van den Buuse, 2010) que mide la capacidad de filtrar información sensorial insignificante, una anomalía cognitiva que también se observa en la esquizofrenia (Renard et al, 2016). Estudios anteriores que evaluaron los efectos del  $\Delta 9$ -THC durante la adolescencia sobre el PPI en roedores han arrojado resultados mixtos. Así, la administración de  $\Delta 9$ -THC indujo déficits persistentes de PPI en ratas macho adultas (Renard et al, 2017; Abela et al, 2019), mientras que en un artículo reciente se observó un aumento de PPI (García-Mompo et al, 2020) en ratones macho. Las consecuencias de la exposición de los adolescentes a JWH-018 en el PPI en la edad adulta no se evaluaron previamente aunque, de acuerdo con nuestro estudio, la administración crónica de este cannabinoide sintético en ratas macho adultas no indujo cambios en la activación sensoriomotora 1 o 7 días después del final del tratamiento farmacológico (Pintori et al, 2021). Curiosamente, encontramos que los efectos de la exposición de los adolescentes al JWH-018 en las respuestas al PPI estaban modulados por el sexo, siendo los ratones macho más vulnerables que los ratones hembra. Aunque las diferencias de sexo son una parte importante y conocida de las enfermedades mentales, a menudo se subestiman en los modelos animales. Los estudios preclínicos y clínicos muestran diferencias entre sexos en el potencial terapéutico y la probabilidad de abuso del cannabis y los cannabinoides (Cooper y Craft, 2018). Además, el sexo se ha descrito como un factor importante que modula los efectos farmacocinéticos, conductuales y de actividad cerebral del  $\Delta 9$ -THC en ratas adolescentes (Ruiz et al, 2021). Por otro lado, se han encontrado diferencias de sexo en la expresión de receptores CB1 entre roedores macho y hembra en todo el cerebro. En este sentido, se encontró que el receptor CB1 era mayor en ratas macho que en ratas hembras en la corteza prefrontal (Castelli et al, 2014). En cualquier caso, serán necesarios experimentos futuros para determinar los factores relacionados con este efecto dependiente del sexo, incluido el momento de la pubertad, las diferentes respuestas bioquímicas, la tolerancia a las inyecciones repetidas y el estado hormonal (es decir, la fase del ciclo estral) (Ruiz et al, 2021).

Los PNN, agregados condensados de la matriz extracelular, son actores importantes en la regulación de la maduración y la plasticidad de las interneuronas, especialmente las interneuronas GABAérgicas de descarga rápida que expresan parvalbúmina PV (Wingert y Sorg, 2021). Aunque las funciones de los PNN aún no están claras, han estado implicadas en la modulación de diferentes procesos cognitivos y podrían considerarse como una futura diana terapéutica potencial para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por recuerdos desadaptativos (Reichelt et al. 2019). Curiosamente, los PNN en la corteza prefrontal están desregulados en pacientes con esquizofrenia (Mauney et al, 2013) y en modelos animales que imitan este trastorno. De hecho, se ha sugerido un vínculo entre estas regiones especializadas de la matriz extracelular y la presencia de psicosis (Alcaide et al, 2019). Observamos una reducción en la densidad de PNN en la corteza prefrontal infralímbica (IL) y prelímbica (PL) a corto plazo debido a la exposición adolescente a JWH-018 en ratones macho. Además, el porcentaje de neuronas PV rodeadas por PNN en la IL tendió a disminuir incluso a largo plazo. Estas alteraciones podrían estar relacionadas con las

---



alteraciones de PPI presentes en estos animales ya que en el IL se encontró una correlación entre la densidad de PNN y el porcentaje de PPI. A diferencia de los efectos de JWH-018, la administración de  $\Delta 9$ -THC durante la adolescencia no modificó la densidad de PNN en la corteza prefrontal en ratones machos adultos (García-Mompo et al, 2020). Esta discrepancia podría deberse al diferente intervalo de tiempo entre el tratamiento y la prueba (más corto en nuestro estudio) y a la mayor potencia de JWH-018 en comparación con el THC.

Las células gliales se encuentran entre los principales factores extrínsecos que facilitan la remodelación de los PNN, actuando así como reguladores clave de sus diversas funciones en la salud y la enfermedad (Crapser et al, 2021). La abundancia de PNN aumenta drásticamente en todo el cerebro adulto sano después de la depleción microglial en ratones (Liu et al, 2021). Curiosamente, se han observado déficits/disminuciones de PNN en diversos trastornos, generalmente asociados con la activación microglial. Además, los astrocitos reactivos también desempeñan un papel en la alteración del PNN después de una lesión cerebral y un traumatismo (Tewari et al, 2022). En particular, la exposición adolescente a JWH-018 indujo una activación de la microglía y los astrocitos en la corteza prefrontal de ratones machos adultos. De acuerdo, un estudio reciente mostró una activación de la microglía a largo plazo en varias áreas del cerebro, como el núcleo accumbens y el caudado-putamen, después de la autoadministración de JWH-018 en adolescentes (Margiani et al, 2022). En conjunto, es tentador plantear la hipótesis de que la exposición a JWH-018 en ratones adolescentes induce cambios en la reactividad de las células gliales y la densidad de PNN en la corteza prefrontal, lo que lleva a la aparición de déficits de activación sensorimotora en la edad adulta.

En resumen, nuestros datos muestran importantes cambios conductuales y neurobiológicos duraderos asociados con el tratamiento con JWH-018 durante la adolescencia. Este estudio tiene profundas implicaciones clínicas y de políticas de salud pública en términos de limitar la exposición de los adolescentes a compuestos sintéticos cannabinoides que pueden ser particularmente neurotóxicos durante ciertas ventanas del desarrollo neurológico.

#### APLICABILIDAD E IMPACTO SOCIO-SANITARIO DEL PROYECTO:

El término Spice (también conocido como “K2”) hace referencia a un preparado elaborado a base de hierbas a las que se rocía de forma deliberada uno o más cannabinoides sintéticos. El abuso de Spice/K2 se ha popularizado en los últimos años fundamentalmente entre los jóvenes y constituye un importante problema de salud pública principalmente en las sociedades occidentales. El fácil acceso, precio asequible, la percepción de que el producto es legal y la dificultad de la detección de estos cannabinoides sintéticos en análisis estandarizados de drogas son factores que han contribuido a la rápida difusión del Spice/K2. El consumo precoz de estos cannabinoides produce cambios neurobiológicos que podrían constituir un importante factor de riesgo para el desarrollo de trastornos psiquiátricos en el adulto.

Los resultados obtenidos a partir del desarrollo de este proyecto de investigación indican que la exposición durante la adolescencia, tanto a JWH-018 como a AB-FUBINACA, induce cambios conductuales y neurobiológicos importantes y duraderos (fundamentalmente alteraciones asociadas a psicosis) que son dependientes del sexo. Este estudio tiene profundas implicaciones clínicas y de políticas de salud pública en términos de limitar la exposición de los adolescentes a compuestos cannabinoides sintéticos de elevada potencia que pueden ser particularmente neurotóxicos durante ciertas ventanas del desarrollo neurológico.

#### SÍNTESIS DE LOS ASPECTOS MÁS RELEVANTES QUE APORTA EL ESTUDIO:

Se ha observado una disminución en la inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto (PPI) en



---

ratones macho, pero no hembra, expuestos a JWH-018 durante la adolescencia. Esta disminución en el PPI sugiere alteraciones de tipo psicótico.

La alteración en el test del PPI descrita con anterioridad se asoció con una reducción en el número de redes perineuronales en las regiones prelímbica e infralímbica de la corteza prefrontal a corto plazo en los ratones macho.

La exposición de los ratones macho adolescentes a JWH-018 indujo una activación de microglía y astrocitos en la corteza prefrontal tanto a corto como a largo plazo.

Se ha observado una disminución en la inhibición por prepulso del reflejo de sobresalto (PPI) en ratones hembra, pero no macho, en ratones tratados con AB-FUBINACA durante la adolescencia.

**ENLACES O REFERENCIAS PARA AMPLIAR INFORMACIÓN ACERCA DEL PROYECTO (en su caso):**

**PUBLICACIONES CIENTÍFICAS GENERADAS (4) (SI NO LO HA HECHO, LE ROGAMOS ENVÍE JUNTO CON ESTA FICHA COPIA DE CADA UNO DE LOS TRABAJOS PUBLICADOS)**

Izquierdo-Luengo C, Ten-Blanco M, Ponce-Renilla M, Perezzan R, Pereda-Pérez I, Berrendero F. Adolescent exposure to the Spice/K2 cannabinoid JWH-018 impairs sensorimotor gating and alters cortical perineuronal nets in a sex-dependent manner. *Translational Psychiatry* 13: 176 (2023)

**PRESENTACIÓN DE RESULTADOS (CONGRESOS, JORNADAS Y ACTIVIDADES DE DISEMINACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA):**

Se han presentado los principales resultados obtenidos en diferentes congresos tanto nacionales como internacionales

XXI Reunión Nacional sobre investigación en Cannabinoides. Málaga, noviembre de 2021  
XXII Reunión Nacional sobre investigación en Cannabinoides. Pamplona, noviembre de 2022  
13th FENS Forum of Neurosciences. París (Francia), julio de 2022  
EBPS 2023 Biennial Meeting. Mannheim (Alemania), agosto de 2023

**PATENTES Y MODELOS DE UTILIDAD (en su caso) :**

**BIBLIOGRAFÍA (4):**

Abela AR, Rahbarnia A, Wood S, Lê AD, Fletcher PJ. Adolescent exposure to  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol delays acquisition of paired-associates learning in adulthood. *Psychopharmacol (Berl)*. 2019;236:1875–86

Castelli M, Fadda P, Casu A, Spano M, Casti A, Fratta W, et al. Male and female rats differ in brain cannabinoid CB1 receptor density and function and in behavioural traits predisposing to drug addiction: effect of ovarian hormones. *Curr Pharm Des*. 2014;20:2100–13.

Cooper ZD, Craft RM. Sex-dependent effects of cannabis and cannabinoids: a translational perspective. *Neuropsychopharmacology* 2018;43:34–51

---



---

Crapser JD, Spangenberg EE, Barahona RA, Arreola MA, Hohsfield LA, Green KN. Microglia facilitate loss of perineuronal nets in the Alzheimer's disease brain. *EBioMedicine*. 2020;58:102919

Garcia-Mompo C, Curto Y, Carceller H, Gilabert-Juan J, Rodriguez-Flores E, Guirado R, et al.  $\Delta$ -9-Tetrahydrocannabinol treatment during adolescence and alterations in the inhibitory networks of the adult prefrontal cortex in mice subjected to perinatal NMDA receptor antagonist injection and to postweaning social isolation. *Transl Psychiatry*. 2020;10:177

Liu YJ, Spangenberg EE, Tang B, Holmes TC, Green KN, Xu X. Microglia elimination increases neural circuit connectivity and activity in adult mouse cortex. *J Neurosci*. 2021;41:1274–87

Mauney SA, Athanas KM, Pantazopoulos H, Shaskan N, Passeri E, Berretta S, et al. Developmental pattern of perineuronal nets in the human prefrontal cortex and their deficit in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2013;74:427–35.

Margiani G, Castelli MP, Pintori N, Frau R, Ennas MG, Orrù V, et al. Adolescent self-administration of the synthetic cannabinoid receptor agonist JWH-018 induces neurobiological and behavioral alterations in adult male mice. *Psychopharmacol (Berl)*. 2022;239:3083–102.

Pintori N, Castelli MP, Miliano C, Simola N, Fadda P, Fattore L, et al. Repeated exposure to JWH-018 induces adaptive changes in the mesolimbic and mesocortical dopaminergic pathways, glial cells alterations, and behavioural correlates. *Br J Pharm*. 2021;178:3476–97

Reichelt AC, Hare DJ, Bussey TJ, Saksida LM. Perineuronal nets: plasticity, protection, and therapeutic potential. *Trends Neurosci*. 2019;42:458–70.

Renard J, Vitalis T, Rame M, Krebs MO, Lenkei Z, le Pen G, et al. Chronic cannabinoid exposure during adolescence leads to long-term structural and functional changes in the prefrontal cortex. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2016;26:55–64

Renard J, Rosen LG, Loureiro M, de Oliveira C, Schmid S, Rushlow WJ, et al. Adolescent cannabinoid exposure induces a persistent sub-cortical hyper-dopaminergic state and associated molecular adaptations in the prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2017;27:1297–310

Ruiz CM, Torrens A, Castillo E, Perrone CR, Cevallos J, Inshishian VC, et al. Pharmacokinetic, behavioral, and brain activity effects of  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol in adolescent male and female rats. *Neuropsychopharmacology* 2021;46:959–69

Saravia R, Ten-Blanco M, Julià-Hernández M, Gagliano H, Andero R, Armario A, et al. Concomitant THC and stress adolescent exposure induces impaired fear extinction and related neurobiological changes in adulthood. *Neuropharmacology*. 2019;144:345–57.

Tewari BP, Chaunsali L, Prim CE, Sontheimer H. A glial perspective on the extracellular matrix and perineuronal net remodeling in the central nervous system. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:1022754

van den Buuse M. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: pharmacology and methodology aspects. *Schizophr Bull*. 2010;36:246–70.

Wingert JC, Sorg BA. Impact of Perineuronal Nets on Electrophysiology of Parvalbumin Interneurons, Principal Neurons, and Brain Oscillations: A Review. *Front Synaptic Neurosci*. 2021;13:673210

---



---

**COFINANCIACIÓN (APARTE DE LA DELGACIÓN DEL GOBIERNO PARA EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS), en su caso:**

**AGRADECIMIENTOS:**

Agradecer a la Delegación del Gobierno para el “Plan Nacional sobre Drogas” [#2019I024] por la financiación de este proyecto. También agradecer el gran esfuerzo realizado por el equipo investigador que ha formado parte de este proyecto.

**CONTACTO (dirección de correo electrónico para consultas al equipo de investigación):**

fernando.berrendero@ufv.es

---

**NOTAS:**

(1): Este resumen está dirigido a dar a conocer los aspectos sustanciales de los proyectos financiados por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas tanto a la población general como a profesionales, a través de su publicación en la página web del Ministerio de Sanidad. Procure ser conciso en las exposiciones. Incluya las gráficas y tablas que considere oportunas. En el caso de precisar otro tipo de información (audiovisuales, archivos de datos, etc.), consulte con el órgano instructor para valorar procedimiento de difusión.

(2): Máximo 500 palabras.

(3): Utilice como fuente el Medical Subjects Headings, MeSH, del Index Medicus.

(4) Se recomienda seguir los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas conforme a las normas de la US National Library of Medicine (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7250/>)