



## RESUMEN FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

**EXPEDIENTE:** 2019I012

**TÍTULO DEL PROYECTO:** Efectos de la exposición a THC durante la gestación y lactancia sobre aspectos conductuales, marcadores cerebrales y cambios en la vulnerabilidad por el consumo de alcohol en ratones machos y hembras. Estrategias farmacológicas.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Jorge Manzaneros Robles

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

Gabriel Rubio Valladolid

María Salud García Gutiérrez

Francisco Navarrete Rueda

**ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:**

Universidad Miguel Hernández

Instituto de Neurociencias

---

### RESUMEN (1) (2):

En los últimos años se ha producido un preocupante aumento del consumo de cannabis durante el embarazo y la lactancia. El principal componente del cannabis, el delta9-tetrahidrocannabinol (THC), atraviesa con facilidad la placenta y llega a leche materna dada su alta naturaleza lipofílica. Los estudios que se han realizado hasta ahora sobre el impacto de la exposición del feto o del recién nacido a THC, sugieren importantes alteraciones cerebrales (funcionales y neuroanatómicas) y comportamentales (respuesta emocional, cognición, vulnerabilidad por el consumo de drogas). Sin embargo, todavía se desconocen muchos aspectos relacionados con la exposición perinatal a cannabis atendiendo a la cantidad consumida, el patrón de consumo o el momento en el que se inicia y su duración, especialmente en relación con la etapa de desarrollo fetal. En este sentido, el consumo simultáneo de otras drogas (alcohol, tabaco) unido a otros factores (rasgos de personalidad, estilo de vida, condicionantes socioeconómicos, etc.) interfieren a la hora de identificar los efectos específicos relacionados con la exposición pre- y posnatal a cannabis. Por tanto, es necesario profundizar en el conocimiento y entendimiento del impacto de la exposición maternal a cannabis, para tratar de identificar y diseñar nuevas estrategias terapéuticas y preventivas que puedan contribuir a reducir, al menos en parte, la toxicidad perinatal del THC en la descendencia.

---



---

Para ello, en este proyecto se ha empleado un modelo animal de exposición maternal al THC a partir del quinto día gestacional (GD5) hasta el destete de las crías al día postnatal 21 (PND21), para abordar los siguientes objetivos: 1) Caracterizar las alteraciones conductuales y neurobiológicas derivadas de la exposición a THC durante la etapa gestacional y lactante tanto en las madres como en sus crías, analizando las diferencias dependientes del género en la etapa adolescente sobre la respuesta emocional, el procesamiento pre-atencional, los procesos de consolidación de la memoria y el nivel de impulsividad; 2) identificar los rasgos de vulnerabilidad diferencial por la motivación y consumo de alcohol entre machos y hembras adultos que fueron expuestos a THC durante gestación y lactancia, y las alteraciones neurobiológicas asociadas; y 3) evaluar los efectos farmacológicos del cannabidiol (CBD) y/o la naltrexona (NTX) sobre la distinta vulnerabilidad por la motivación y consumo de alcohol y las alteraciones neurobiológicas asociadas que presenten los ratones machos y hembras expuestos a THC durante su gestación y lactancia.

**ABSTRACT (English):**

In recent years, there has been a worrying increase in cannabis use during pregnancy and lactation. The main component of cannabis, delta9-tetrahydrocannabinol (THC), easily crosses the placenta and reaches breast milk due to its highly lipophilic nature. Recently studies on the impact of exposure of the fetus or newborn to THC suggest significant brain (functional and neuroanatomical) and behavioral (emotional response, cognition, vulnerability to drug use) alterations. However, many aspects related to perinatal exposure to cannabis are still unknown in terms of the amount consumed, the pattern of consumption or the time at which it starts, and its duration, especially in relation to the fetal development stage. In this sense, the simultaneous consumption of other drugs (alcohol, tobacco) together with other factors (personality traits, lifestyle, socioeconomic conditioning factors, etc.) interfere in identifying the specific effects related to pre- and postnatal exposure to cannabis. Therefore, it is necessary to deepen the knowledge and understanding of the impact of maternal exposure to cannabis to try to identify and design new therapeutic and preventive strategies that can contribute to reducing, at least in part, the perinatal toxicity of THC in the offspring.

For this purpose, this project has employed an animal model of maternal exposure to THC from gestational day 5 (GD5) until weaning of the offspring at postnatal day 21 (PND21), to address the following objectives: 1) to characterize the behavioral and neurobiological alterations derived from THC exposure during the gestational and infant stage in both mothers and their offspring, analyzing gender-dependent differences in the adolescent stage on emotional response, pre-attentive processing, memory consolidation processes and level of impulsivity; 2) to identify the differential vulnerability traits for motivation and alcohol consumption between adult males and females exposed to THC during gestation and lactation, and the associated neurobiological alterations; and 3) to evaluate the pharmacological effects of cannabidiol (CBD) and/or naltrexone (NTX) on the differential vulnerability for motivation and alcohol consumption and the associated neurobiological alterations in male and female mice exposed to THC during gestation and lactation.

**PALABRAS CLAVE (3):**

Cannabis, gestación, lactancia, ratón, alcohol, tratamiento, cannabidiol, expresión génica.

**KEY WORDS (English):**

Cannabis, gestation, lactation, mouse, alcohol, treatment, cannabidiol, gene expression.

---



---

#### JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:

El presente proyecto se encuadra en la línea prioritaria “Determinantes relacionados con las tendencias del consumo de drogas, especialmente en relación con alcohol y cannabis, en población joven y con perspectiva de género”. Destaca en este proyecto la información que podría aportar en cuanto a la creciente tendencia del consumo de cannabis en mujeres embarazadas y lactantes, y la importante repercusión que este tipo de exposición tiene sobre los hijos e hijas adolescentes (población joven con perspectiva de género) en cuanto a su respuesta emocional, estado cognitivo o grado de impulsividad. Asimismo, el proyecto pretende valorar cómo la exposición a cannabis perinatal puede modificar la vulnerabilidad por el consumo de alcohol en ratones adultos machos y hembras, para finalmente evaluar nuevos abordajes terapéuticos (estrategias terapéuticas con perspectiva de género).

Objetivos generales:

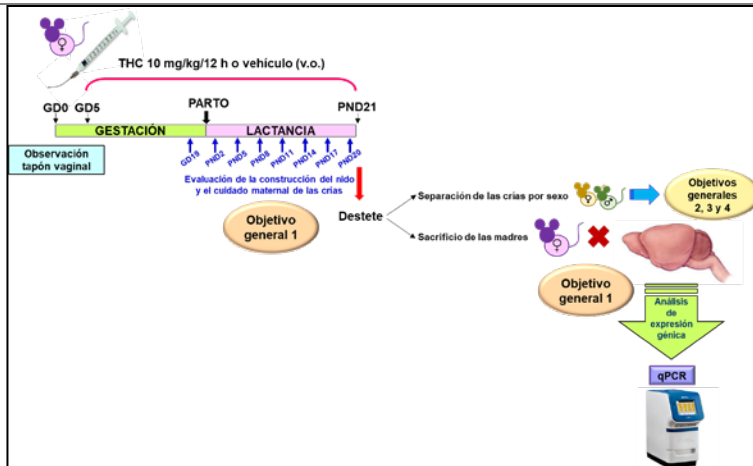
1. Identificar alteraciones en la conducta maternal (preparación del nido, cuidado de las crías, lactancia) y neurobiológicas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis) en ratones hembras, inducidas por la administración de THC durante su etapa gestacional y lactante.
2. Identificar alteraciones conductuales (respuesta emocional, procesos de consolidación de la memoria, respuesta de sobresalto e inhibición prepulso, conducta impulsiva) y neurobiológicas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis) diferenciales entre ratones machos y hembras adolescentes, inducidas por la exposición a THC durante las etapas de gestación y lactancia.
3. Estudiar la vulnerabilidad diferencial por el consumo de alcohol entre ratones machos y hembras adultas que fueron expuestos a THC durante las etapas de gestación y lactancia, y analizar las posibles alteraciones neurobiológicas asociadas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis).
4. Evaluar la utilidad terapéutica del cannabidiol, solo o combinado con naltrexona, sobre la motivación y el nivel de consumo de alcohol de ratones machos y hembras adultos expuestos a THC durante las etapas de gestación y lactancia, y analizar la posible regulación farmacológica de las alteraciones neurobiológicas asociadas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis).

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

**Objetivo general 1:** Identificar alteraciones en la conducta maternal (preparación del nido, cuidado de las crías, lactancia) y neurobiológicas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis) en ratones hembras, inducidas por la administración de THC durante su etapa gestacional y lactante.

se solicitaron ratones macho y hembra C57BL/6J a los laboratorios Charles River (Lille, Francia), y se estabularon en el animalario del Servicio de Experimentación Animal (SEA, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, España). Tras una semana de aclimatación, se llevaron a cabo citologías vaginales a las hembras para detectar las fases más adecuadas de su ciclo estral (proestro y estro) y proceder al cruce con los machos. Tras los cruces y la observación del tapón vaginal, se realizó una citología adicional a las 48 h para confirmar la posible gestación, empezando con la administración del THC a una dosis de 10 mg/kg cada 12h (v.o.) (o vehículo) a partir del quinto día gestacional (GD5), tal y como se muestra en la *Figura 1*.

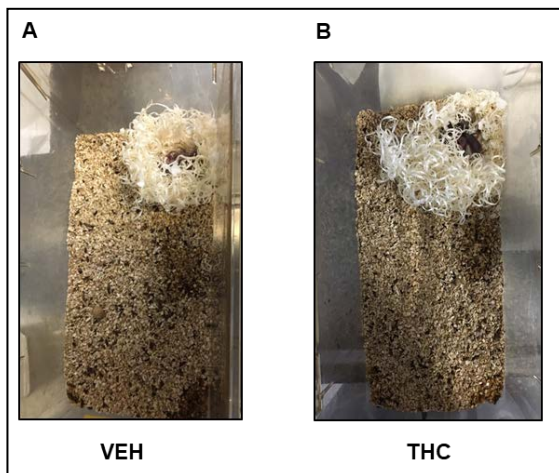
---



**Figura 1.** Diagrama temporal que incluye la administración del THC a las hembras en la etapa gestacional y de lactancia a partir del día GD5 hasta el destete de las crías (PND21), y la evaluación del cuidado maternal de las crías y del nido. THC= dronabinol, GD= día gestacional, PND= día post-natal.

Se evaluó el cuidado del nido por parte de las madres antes del parto, en el día gestacional 19 (GD19). Después del parto, durante los días postnatales 2, 5, 8, 11, 14, 17 y 20, se evaluó la conducta materna tanto en relación con el propio autocuidado de las ratonas como con el cuidado que les prestan a las crías. La administración del THC a la dosis seleccionada alteró de forma significativa la preparación del nido, así como la conducta materna en comparación con las madres tratadas con el vehículo correspondiente.

Se evaluaron las características del nido el día posnatal 5, dándole una puntuación (*nest score*) según los criterios propuestos por Hess et. al, 2008 (PMID: 19049249).

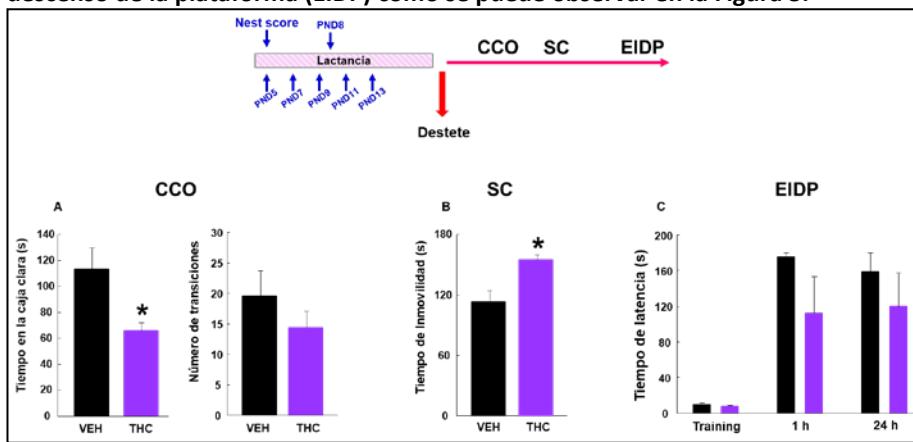


**Figura 2.** Evaluación de las características del nido. Fotografías representativas del aspecto del nido de una madre tratada con vehículo (A) y una madre tratada con THC (B).

Se evaluó, además, el tiempo que emplea la madre en volver al nido tras una separación de 5 minutos de sus crías (PND5, 7, 9, 11 y 13), y el tiempo de recuperación de dos de las crías más protegidas de cada camada que se separan momentáneamente del nido (PND8). Las mayores diferencias se encontraron en el día posnatal 7 (PND 7) en cuanto al tiempo que tarda la madre que se le administra THC en comparación con las madres administradas con vehículo, en regresar al nido. Es significativamente mayor el tiempo que tarda la madre en recuperar a las dos crías en las mamás THC con respecto al grupo vehículo.



Todas las evaluaciones maternas se realizan antes del destete de las crías. El día del destete y una vez realizado este, las madres procedentes del primer experimento se sacrificaron por dislocación cervical y se aislaron sus cerebros para llevar a cabo análisis de expresión génica de distintas dianas relacionadas con el eje del estrés, el sistema cannabinoide endógeno y los procesos de neurogénesis y neuroplasticidad. Adicionalmente, se decidió mantener estabuladas tras el destete a las madres tratadas con THC y sus correspondientes controles con el objetivo de valorar rasgos de ansiedad, depresión y memoria aversiva. Aquí se pudo observar un mayor rasgo de ansiedad en la prueba de la caja clara-oscura (CCO), y una mayor conducta de tipo depresiva en la prueba de suspensión por la cola (SC). Además, las madres expuestas a THC mostraron problemas en los procesos de consolidación de la memoria aversiva en la prueba de evitación inhibitoria del descenso de la plataforma (EIDP) como se puede observar en la Figura 5.



**Figura 3.** Evaluación de rasgos de ansiedad en la caja clara-oscura (CCO; A), rasgos depresivos en la prueba de suspensión por la cola (SC; B), y memoria aversiva en la prueba de evitación inhibitoria del descenso de la plataforma (EIDP; C) en hembras que fueron expuestas a THC durante su etapa gestacional y lactante, en comparación con el grupo control (VEH). \*  $p < 0.05$ .

Estos resultados ponen de manifiesto que la administración del THC a la dosis seleccionada estaría relacionada con alteraciones significativas en el cuidado materno que afectan a la calidad del nido, al tipo de lactancia y al instinto protector de la madre sobre sus crías. Además, se han evidenciado las alteraciones emocionales y cognitivas de las madres expuestas a THC durante su etapa gestacional y lactante.

**Objetivo general 2:** Identificar alteraciones conductuales (respuesta emocional, procesos de consolidación de la memoria, respuesta de sobresalto e inhibición prepulso, conducta impulsiva) y neurobiológicas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis) diferenciales entre ratones machos y hembras adolescentes, inducidas por la exposición a THC durante las etapas de gestación y lactancia.

Tras el sacrificio de las madres, las crías se separaron por sexos, se estabularon en grupos de 4-6 crías por cada jaula, y se mantuvieron inalterados durante una semana. Tras ese periodo de tiempo, las crías machos y hembras se expusieron a distintos paradigmas conductuales encaminados a dar respuesta al Objetivo General 2. Se evaluaron los cambios a nivel de la respuesta emocional y de los procesos de consolidación de la memoria en las crías expuestas al THC durante el periodo perinatal frente a los controles.

Los resultados finales obtenidos donde se observa que, tanto los machos como las hembras que proceden de madres expuestas a THC entre los días GD5 y PND21, presentan elevados rasgos de ansiedad evaluados mediante los paradigmas conductuales del laberinto elevado en cruz (LEC) y la



ingesta inhibida por la novedad (IIN). Asimismo, también presentaron elevados rasgos de depresión en la prueba de suspensión por la cola (SC). Estas alteraciones en la conducta emocional se acompañaron de problemas en la memoria de tipo aversivo, tanto a corto como a largo plazo, evaluada mediante el paradigma de evitación inhibitoria del descenso de la plataforma (EIDP).

Otro de los paradigmas que se emplearon para caracterizar el estado cognitivo fue la inhibición prepulso. Tanto en el caso de los machos como de las hembras expuestas a THC durante la etapa gestacional y lactante, ante la aplicación de los estímulos de prepulso de 74 y 82 dB se observó un menor porcentaje de inhibición que sugiere un problema pre-atencional inducido por la exposición perinatal a dronabinol.

Finalmente, para completar la caracterización de los problemas en el estado cognitivo de los animales expuestos a THC durante la etapa perinatal, también se llevó a cabo el paradigma del reconocimiento de objetos (RO). La exposición a THC empeoró el índice de discriminación entre el objeto nuevo y el familiar (24h después de la exposición a 2 objetos familiares), siendo importante destacar que el efecto fue claramente más marcado en el caso de los machos.

Por tanto, considerando los resultados de las evaluaciones conductuales realizadas en varias ocasiones a lo largo de las tres anualidades del proyecto, se demuestran las alteraciones en el estado emocional y cognitivo de los machos y las hembras expuestas a THC durante la gestación y la lactancia. Además, la similitud de los resultados entre los diferentes experimentos que se han llevado a cabo también indica la reproducibilidad del procedimiento.

Tras finalizar esta fase de la evaluación conductual, las crías se sacrificaron por dislocación cervical y se extrajeron los cerebros para llevar a cabo análisis inmunohistoquímicos y de expresión génica de distintas dianas relacionadas con el eje del estrés, el sistema cannabinoide endógeno, el sistema dopaminérgico mesolímbico, y los procesos de neurogénesis y neuroplasticidad.

Se analizó la expresión génica del factor liberador de corticotropina (*Crf*), donde se observó una disminución de este a nivel basal, lo que podría estar indicando una alteración del eje del estrés en los ratones macho y hembras expuestas a THC durante la gestación y la lactancia (Figura 4)

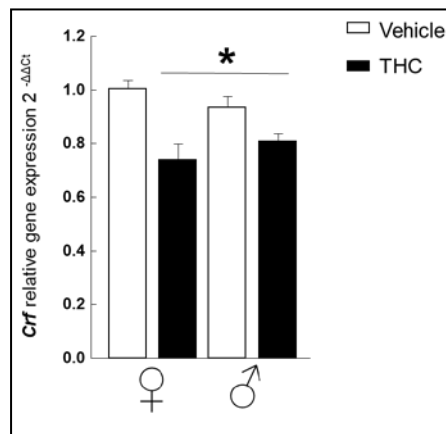
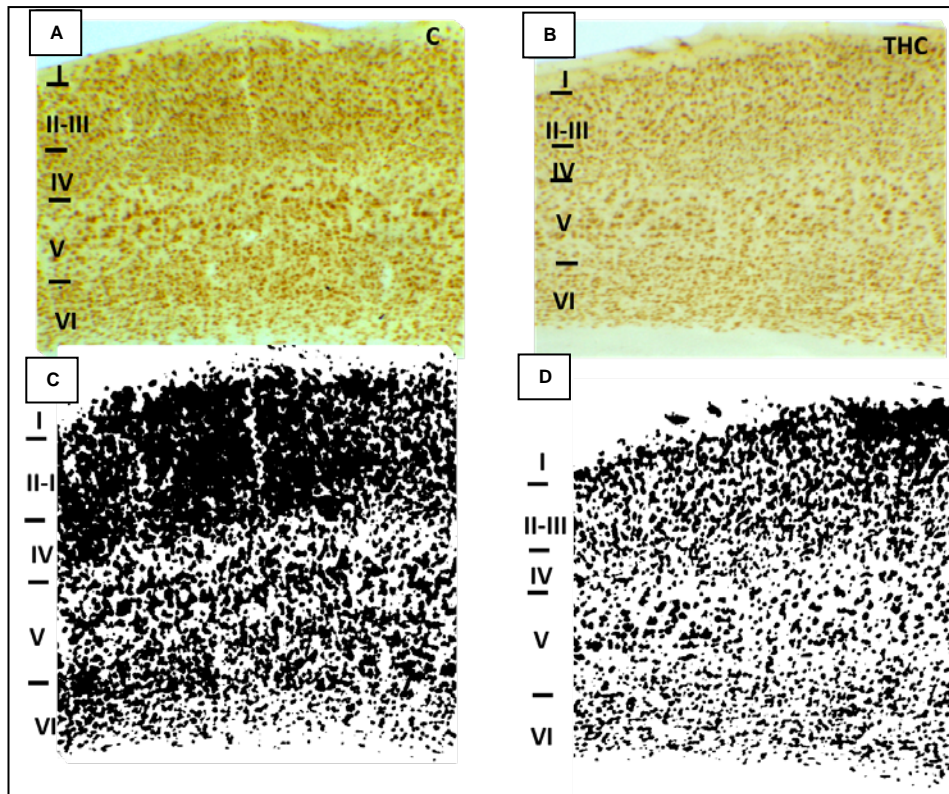


Figura 4. Expresión génica relativa del *Crf* en machos y hembras VEH y expuestos a THC durante la gestación y la lactancia. \*  $p < 0.05$ .

Además de la expresión génica, se han realizado experimentos de inmunohistoquímica con cerebros fijados obtenidos de ratones macho con el objetivo de valorar alteraciones en el neurodesarrollo. Como se puede ver en la Figura 5, la corteza somatosensorial de los ratones macho expuestos a THC es más pequeña, la laminación cortical está alterada y los límites entre las



capas corticales no están bien definidos. Además, hay una mayor densidad neuronal en la capa VI en los animales expuestos a THC y una menor densidad en las capas II-III de acuerdo con el patrón de migración (de adentro hacia afuera) de la neocorteza. Por tanto, estos datos sugieren que el proceso normal de maduración del cerebro y el establecimiento de las funciones cerebrales normales estén afectados.



**Figura 12.** Inmunohistoquímica para NeuN de la corteza somatosensorial de crías macho controles (A, C) y expuestas a THC (B, D). Nótese la laminación cortical alterada en las crías THC con respecto a los controles. En los paneles C y D se muestra el detalle en contraste blanco y negro del marcaje anti-NeuN.

**Objetivo general 3:** Estudiar la vulnerabilidad diferencial por el consumo de alcohol entre ratones macho y hembra adultos que fueron expuestos a THC durante las etapas de gestación y lactancia, y analizar las posibles alteraciones neurobiológicas asociadas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis).

Se evaluó la vulnerabilidad al consumo y motivación por el alcohol, mediante el paradigma de la auto-administración oral, en las crías machos y hembras expuestas a THC o VEH durante la etapa gestacional y lactante. Los animales son introducidos en cajas modulares (Panlab, Barcelona) para que aprendan la tarea operante (se consigue motivando al animal con la restricción de agua y comida, y con la liberación de una solución de sacarina). Paulatinamente se va incrementando el porcentaje de alcohol que reciben hasta llegar a un 8% v/v. En este momento se evalúa durante varios días el consumo y la motivación por conseguir obtener una pequeña recompensa en forma de unas pocas gotas de solución hidroalcohólica. Para ello se aplica por un lado un protocolo de razón fija 1 (FR1: 1 accionamiento de la palanca = 1 recompensa) y de razón fija 3 (FR3: 3 accionamientos de la palanca = 1 recompensa). Finalmente, se evalúa la motivación en la fase de razón progresiva (PR) en la que se puede analizar particularmente la motivación de los animales obteniendo el valor del punto de corte: número de accionamientos consecutivos que un animal



---

puede realizar para obtener una recompensa.

Los resultados obtenidos, tanto los machos como las hembras expuestas a THC se caracterizan por valores significativamente superiores en el número de veces que accionaban la palanca activa en las fases FR1 y FR3, así como en el nivel de consumo de etanol y la motivación. Estos resultados indican claramente que la exposición a THC incrementa la vulnerabilidad hacia las propiedades reforzantes y motivacionales del alcohol.

Tras finalizar la evaluación de la vulnerabilidad al consumo de alcohol, las crías se sacrificaron por dislocación cervical y se extrajeron los cerebros para llevar a cabo análisis de expresión génica de distintas dianas relacionadas principalmente con el sistema cannabinoide endógeno y los sistemas dopaminérgico y opioide mesolímbicos.

**Objetivo general 4:** Evaluar la utilidad terapéutica del cannabidiol, solo o combinado con naltrexona, sobre la motivación y el nivel de consumo de alcohol de ratones machos y hembras adultos expuestos a THC durante las etapas de gestación y lactancia, y analizar la posible regulación farmacológica de las alteraciones neurobiológicas asociadas (eje del estrés, sistema endocannabinoide, sistema mesolímbico, procesos de neuroplasticidad/neurogénesis)

En la tercera anualidad, tras los cruces y la confirmación de la posible gestación, se comenzó con la administración del THC a las hembras a una dosis de 10 mg/kg cada 12h (v.o.) (o vehículo) a partir del quinto día gestacional (GD5) y hasta el destete (PND21). Posteriormente, un grupo de crías recibieron cannabidiol (CBD) intraperitoneal (i.p.) a una dosis de 30mg/kg/día, o su correspondiente VEH, desde el momento del destete y durante al menos cuatro semanas. Después, se comenzaron las pruebas de conducta emocional y la evaluación de la vulnerabilidad al consumo y motivación por el alcohol, en las crías machos y hembras expuestas a THC o VEH durante la etapa gestacional y lactante, y administradas con CBD o VEH (i.p.). Se obtuvieron los siguientes grupos experimentales:

- 1) Crías machos VEH+VEH
- 2) Crías machos THC+VEH
- 3) Crías machos THC+CBD
- 4) Crías hembras VEH+VEH
- 5) Crías hembras THC+VEH
- 6) Crías hembras THC+CBD

Las crías machos y hembras se expusieron a distintos paradigmas conductuales, siendo uno de los objetivos fundamentales de esta fase evaluar si el CBD sería capaz de mejorar las alteraciones emocionales que produce la exposición perinatal a THC. Para ello se realizaron las pruebas del laberinto elevado en cruz y la prueba de la suspensión por la cola.

Se puso en evidencia nuevamente las alteraciones emocionales que presentan los ratones tanto machos como hembras expuestos al THC durante la gestación y la lactancia, y cómo el CBD administrado de forma ininterrumpida desde el momento del destete regula de forma significativa estas alteraciones. Concretamente, el CBD normaliza los rasgos ansiosos y depresivos de los ratones expuestos a THC, mostrando un efecto ansiolítico y antidepresivo.

**Análisis estadístico:** El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el programa informatizado Sigmaplot 11 (Systat software), utilizando el test de la *t* de Student cuando se compararon dos grupos, o ANOVA de una o dos vías seguido del test Student-Newman-Keuls cuando se compararon tres o más grupos, dependiendo del diseño experimental. Las diferencias se considerarán significativas cuando la probabilidad de error sea menor del 5%.

---





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

Con este proyecto se ha podido caracterizar en un modelo murino los siguientes aspectos: 1) las alteraciones conductuales y neurobiológicas derivadas de la exposición a THC durante la etapa gestacional y lactante tanto en las madres como en sus crías, analizando las diferencias dependientes del género en la etapa adolescente sobre la respuesta emocional, los procesos de consolidación de la memoria y la filtración de información (pre-atención); y 2) identificar los rasgos de vulnerabilidad diferencial por la motivación y consumo de alcohol entre machos y hembras adultos que fueron expuestos a THC durante gestación y lactancia, y las alteraciones neurobiológicas asociadas. Destaca sobre todo la información que aporta en cuanto a la creciente tendencia del consumo de cannabis en mujeres embarazadas y lactantes, y la importante repercusión que este tipo de exposición tiene sobre los hijos e hijas adolescentes (población joven con perspectiva de género) en cuanto a su respuesta emocional, estado cognitivo o grado de impulsividad. Asimismo, los resultados obtenidos evidencian cómo la exposición a cannabis perinatal modifica la vulnerabilidad por el consumo de alcohol en ratones adultos machos y hembras. En definitiva, estos resultados proporcionan información relevante acerca de las graves consecuencias derivadas de la exposición perinatal a THC sobre diferentes aspectos conductuales, así como las alteraciones en los mecanismos del desarrollo cortical y la regulación del eje del estrés, entre otros sistemas que se están estudiando actualmente. Esto podría explicar, en parte, los diferentes trastornos psiquiátricos que sufren los hijos de madres consumidoras de cannabis durante la gestación y la lactancia. Por último, el tratamiento temprano y prolongado con CBD ha conseguido mejorar de forma significativa las alteraciones en la conducta emocional (rasgos de ansiedad y depresión), a pesar de no mostrar el efecto esperado en cuanto al consumo y motivación por el alcohol. Por tanto, el CBD podría ser útil para el manejo de los trastornos emocionales que pueden sufrir los hijos/as de mujeres que consumieron cannabis durante el embarazo y/o la lactancia. Sin embargo, se requiere de más estudios que puedan caracterizar en mayor medida el potencial terapéutico del CBD en este contexto para evaluar su posible aplicación futura en el ámbito clínico.

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

Los resultados que se obtengan de este proyecto permitieron identificar las alteraciones comportamentales (ansiedad, depresión, impulsividad, memoria) neuroquímicas (genes relacionados con la respuesta al estrés) y del neurodesarrollo inducidas por el consumo de THC a través de la placenta y la leche materna en ratones hembras administradas desde el día 5 de gestación hasta el destete. Este diseño también permitió establecer las diferencias entre los machos y hembras procedentes de estas madres, en cuanto a su perfil conductual y cerebral, y en relación con su mayor o menor vulnerabilidad al consumo de alcohol.

La administración de THC a las madres ratonas desde el día 5 de gestación hasta el destete produjo una serie de cambios en la conducta maternal (menor atención a la construcción del nido, menor cuidado de las crías, etc.). Además, se identificaron las alteraciones comportamentales y neurobiológicas que se producirán en las crías procedentes de las madres tratadas con THC en relación con las tratadas con vehículo, su respuesta diferencial a la exposición al alcohol, su posible respuesta diferencial al tratamiento farmacológico.

Los resultados obtenidos del desarrollo de este proyecto podrán resultar relevantes para ayudar a tomar decisiones clínicas en pacientes embarazadas que consuman THC para tratar de prevenir muchos o algunos de los problemas que pueden desarrollar tanto las madres como las crías. Además, se tratará de establecer protocolos o estrategias de prevención que contribuyan a minimizar el daño que pueda producirse, y a aplicar los tratamientos más apropiados y eficaces lo antes posible.

Por consiguiente, los datos que se extraigan a partir de la ejecución del proyecto podrían proporcionar una información muy útil en el diseño de nuevas estrategias preventivas y



---

terapéuticas en los trastornos por uso de drogas, especialmente alcohol y cannabis, introduciendo el enfoque de género. La ejecución de este proyecto podrá aportar datos valiosos para poder generar futuras nuevas líneas de investigación, que incluyan tanto hombres como mujeres, orientadas a la mejora del manejo clínico de pacientes que desarrollen problemas relacionados con el consumo de alcohol, especialmente cuando se tenga en cuenta la exposición a factores de riesgo como el consumo de cannabis durante la gestación y la lactancia. Esto supondría un avance muy significativo para mejorar la vida de los pacientes desde el punto de vista clínico, social, familiar y laboral, además de reducir el gasto en los servicios de salud.

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

**Publicación 1**

- Tipo: Artículo de revisión open access
- Título: Cannabis use in pregnant and breastfeeding women: behavioral and neurobiological consequences.
- Autores: Francisco Navarrete, María Salud García Gutiérrez, Ani Gasparyan, Amaya Austrich-Olivares, Teresa Femenia and Jorge Manzanares
- Año: 2020
- Revista: Frontiers in Psychiatry
- Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 11:586447, 10.3389/fpsy.2020.586447, 33240134

**Publicación 2**

- Tipo: Artículo de revisión open access
- Título: Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry
- Autores: Francisco Navarrete, María Salud García Gutiérrez, Rosa Jurado-Barba, Gabriel Rubio, Ani Gasparyan, Amaya Austrich-Olivares and Jorge Manzanares
- Año: 2020
- Revista: Frontiers in Psychiatry
- Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 11, 315, 10.3389/fpsy.2020.00315, 32395111

**Publicación 3**

- Tipo: Artículo de revisión open access
- Título: Role of Cannabidiol in the Therapeutic Intervention for Substance Use Disorders
- Autores: Francisco Navarrete, María Salud García Gutiérrez, Ani Gasparyan, Amaya Austrich-Olivares and Jorge Manzanares
- Año: 2021
- Revista: Frontiers in Pharmacology
- Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 12, 626010, 10.3389/fphar.2021.626010, 34093179

**Publicación 4**

- Tipo: Artículo de revisión open access
- Título: CB2 Receptor involvement in the treatment of Substance Use Disorders
- Autores: Francisco Navarrete, María Salud García-Gutiérrez, Ani Gasparyan, Daniela Navarro and Jorge Manzanares
- Año: 2021
- Revista: Biomolecules
- Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 11, 1556. doi: 10.3390/biom11111556. 34827554

**Publicación 5**

- Tipo: Artículo de revisión open access
  - Título: Molecular alterations of the Endocannabinoids System in psychiatric disorders
-



- 
- Autores: Daniela Navarro, Ani Gasparyan, Francisco Navarrete, Abraham B Torregrosa, Gabriel Rubio, Marta Marín Mayor, Gabriela B. Acosta, María Salud García Gutiérrez, and Jorge Manzanares
  - Año: 2022
  - Revista: International Journal of Molecular Sciences
  - Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 23, 4764. doi: 10.3390/ijms23094764. 35563156

#### Publicación 6

- Tipo: Artículo de revisión open access
- Título: Biomarkers of the Endocannabinoid System in Substance Use Disorders
- Autores: Francisco Navarrete, María Salud García-Gutiérrez, Ani Gasparyan, Daniela Navarro, Francisco López-Picón, Álvaro Morcuende, Teresa Femenía and Jorge Manzanares
- Año: 2022
- Revista: Biomolecules
- Volumen, nº artículo, DOI, PMID: 12, 396. doi: 10.3390/biom12030396. 35327588

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

Los resultados obtenidos en las tres anualidades fueron y serán presentados en los siguientes Congresos:

- Presentación escrita: "Effects of synthetic THC (Dronabinol) administration during gestation and lactation in the offspring." Congreso: 51th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Autores: Daniela Navarro, Ani Gasparyan, Francisco Navarrete y Jorge Manzanares. Fecha: 12-16 noviembre 2022
- Presentación escrita: "Dronabinol administration during gestation and lactation produces behavioral and neurobiological alterations in the offspring." Congreso: 2023 Annual meeting of American Psychiatric association. Autores: Daniela Navarro, Ani Gasparyan, Francisco Navarrete y Jorge Manzanares. Fecha: 20-24 mayo 2023

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

#### BIBLIOGRAFÍA (4):

1. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report. 2019.
2. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional Sobre Drogas. Encuesta sobre uso de alcohol y otras drogas en España (EDADES). 2017.
3. Tawfik GM, Hashan MR, Abdelaal A, Tieu TM, Huy NT. A commentary on the medicinal use of marijuana. Trop Med Health. 2019; 47:35.
4. Cohen K, Weizman A, Weinstein A. Positive and Negative Effects of Cannabis and Cannabinoids on Health. Clin Pharmacol Ther. 2019;105(5):1139-47.
5. Ebbert JO, Scharf EL, Hurt RT. Medical Cannabis. Mayo Clin Proc. 2018;93(12):1842-7.
6. Pisanti S, Bifulco M. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. J Cell Physiol. 2019;234(6):8342-51.
7. Mark K, Gryczynski J, Axenfeld E, Schwartz RP, Terplan M. Pregnant Women's Current and Intended Cannabis Use in Relation to Their Views Toward Legalization and Knowledge of Potential Harm. J Addict Med. 2017;11(3):211-6.
8. Hill KP. Medical Use of Cannabis in 2019. JAMA. 2019.
9. Ryan SA, Ammerman SD, O'Connor ME, Committee On Substance USE, Prevention, Section On B. Marijuana Use During Pregnancy and Breastfeeding: Implications for Neonatal and Childhood Outcomes. Pediatrics. 2018;142(3).
10. Corsi DJ, Walsh L, Weiss D, Hsu H, El-Chaar D, Hawken S, et al. Association Between Self-



- 
- reported Prenatal Cannabis Use and Maternal, Perinatal, and Neonatal Outcomes. *JAMA*. 2019;322(2):145-52.
11. Brents LK. Marijuana, the Endocannabinoid System and the Female Reproductive System. *Yale J Biol Med*. 2016;89(2):175-91.
  12. Jansson LM, Jordan CJ, Velez ML. Perinatal Marijuana Use and the Developing Child. *JAMA*. 2018;320(6):545-6.
  13. Velez M, Jordan CJ, Jansson LM. Cannabis Use Disorder During the Perinatal Period. Montoya I, editor 2019.
  14. Martin CE, Longinaker N, Mark K, Chisolm MS, Terplan M. Recent trends in treatment admissions for marijuana use during pregnancy. *J Addict Med*. 2015;9(2):99-104.
  15. Young-Wolff KC, Sarovar V, Tucker LY, Conway A, Alexeeff S, Weisner C, et al. Self-reported Daily, Weekly, and Monthly Cannabis Use Among Women Before and During Pregnancy. *JAMA Netw Open*. 2019;2(7):e196471.
  16. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. National Survey on Drug Use and Health (NSDUH). 2017.
  17. Asociación Española de Pediatría. Cannabis durante el embarazo y lactancia: una crisis silenciosa para el cerebro en desarrollo. 2019.
  18. Freeman TP, Groshkova T, Cunningham A, Sedefov R, Griffiths P, Lynskey MT. Increasing potency and price of cannabis in Europe, 2006-16. *Addiction*. 2019;114(6):1015-23.
  19. Moore DG, Turner JD, Parrott AC, Goodwin JE, Fulton SE, Min MO, et al. During pregnancy, recreational drug-using women stop taking ecstasy (3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine) and reduce alcohol consumption, but continue to smoke tobacco and cannabis: initial findings from the Development and Infancy Study. *J Psychopharmacol*. 2010;24(9):1403-10.
  20. Ko JY, Farr SL, Tong VT, Creanga AA, Callaghan WM. Prevalence and patterns of marijuana use among pregnant and nonpregnant women of reproductive age. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(2):201 e1- e10.
  21. Hutchings DE, Martin BR, Gamagaris Z, Miller N, Fico T. Plasma concentrations of delta-9-tetrahydrocannabinol in dams and fetuses following acute or multiple prenatal dosing in rats. *Life Sci*. 1989;44(11):697-701.
  22. Lee CC, Chiang CN. Maternal-fetal transfer of abused substances: pharmacokinetic and pharmacodynamic data. *NIDA Res Monogr*. 1985; 60:110-47.
  23. Blackard C, Tennes K. Human placental transfer of cannabinoids. *N Engl J Med*. 1984;311(12):797.
  24. Jakubovic A, Hattori T, McGeer PL. Radioactivity in suckled rats after giving 14 C-tetrahydrocannabinol to the mother. *Eur J Pharmacol*. 1973;22(2):221-3.
  25. Perez-Reyes M, Wall ME. Presence of delta9-tetrahydrocannabinol in human milk. *N Engl J Med*. 1982;307(13):819-20.
  26. Murphy LL, Munoz RM, Adrian BA, Villanua MA. Function of cannabinoid receptors in the neuroendocrine regulation of hormone secretion. *Neurobiol Dis*. 1998;5(6 Pt B):432-46.
  27. Astley SJ, Little RE. Maternal marijuana use during lactation and infant development at one year. *Neurotoxicol Teratol*. 1990;12(2):161-8.
  28. Fernandez-Ruiz J, Berrendero F, Hernandez ML, Ramos JA. The endogenous cannabinoid system and brain development. *Trends Neurosci*. 2000;23(1):14-20.
  29. Fride E. Multiple roles for the endocannabinoid system during the earliest stages of life: pre- and postnatal development. *J Neuroendocrinol*. 2008;20 Suppl 1:75-81.
  30. Park B, Gibbons HM, Mitchell MD, Glass M. Identification of the CB1 cannabinoid receptor and fatty acid amide hydrolase (FAAH) in the human placenta. *Placenta*. 2003;24(10):990-5.
  31. Khare M, Taylor AH, Konje JC, Bell SC. Delta9-tetrahydrocannabinol inhibits cytotrophoblast cell proliferation and modulates gene transcription. *Mol Hum Reprod*. 2006;12(5):321-33.
-



32. El Marroun H, Tiemeier H, Steegers EA, Jaddoe VW, Hofman A, Verhulst FC, et al. Intrauterine cannabis exposure affects fetal growth trajectories: the Generation R Study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2009;48(12):1173-81.
33. Fride E. The endocannabinoid-CB (1) receptor system in pre- and postnatal life. *Eur J Pharmacol.* 2004;500(1-3):289-97.
34. Jutras-Aswad D, DiNieri JA, Harkany T, Hurd YL. Neurobiological consequences of maternal cannabis on human fetal development and its neuropsychiatric outcome. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2009;259(7):395-412.
35. Campolongo P, Trezza V, Ratano P, Palmery M, Cuomo V. Developmental consequences of perinatal cannabis exposure: behavioral and neuroendocrine effects in adult rodents. *Psychopharmacology (Berl).* 2011;214(1):5-15.
36. Wang X, Dow-Edwards D, Anderson V, Minkoff H, Hurd YL. In utero marijuana exposure associated with abnormal amygdala dopamine D2 gene expression in the human fetus. *Biol Psychiatry.* 2004;56(12):909-15.
37. DiNieri JA, Wang X, Szutorisz H, Spano SM, Kaur J, Casaccia P, et al. Maternal cannabis use alters ventral striatal dopamine D2 gene regulation in the offspring. *Biol Psychiatry.* 2011;70(8):763-9.
38. Perez-Rosado A, Manzanares J, Fernandez-Ruiz J, Ramos JA. Prenatal Delta (9)-tetrahydrocannabinol exposure modifies proenkephalin gene expression in the fetal rat brain: sex-dependent differences. *Brain Res Dev Brain Res.* 2000;120(1):77-81.
39. Corchero J, Garcia-Gil L, Manzanares J, Fernandez-Ruiz JJ, Fuentes JA, Ramos JA. Perinatal delta9-tetrahydrocannabinol exposure reduces proenkephalin gene expression in the caudate-putamen of adult female rats. *Life Sci.* 1998;63(10):843-50.
40. Vela G, Martin S, Garcia-Gil L, Crespo JA, Ruiz-Gayo M, Fernandez-Ruiz JJ, et al. Maternal exposure to delta9-tetrahydrocannabinol facilitates morphine self-administration behavior and changes regional binding to central mu opioid receptors in adult offspring female rats. *Brain Res.* 1998;807(1-2):101-9.
41. Antonelli T, Tanganelli S, Tomasini MC, Finetti S, Trabace L, Steardo L, et al. Long-term effects on cortical glutamate release induced by prenatal exposure to the cannabinoid receptor agonist (R)-(+)-[2,3-dihydro-5-methyl-3-(4-morpholinyl-methyl) pyrrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphthalenylmethanone: an in vivo microdialysis study in the awake rat. *Neuroscience.* 2004;124(2):367-75.
42. Castaldo P, Magi S, Gaetani S, Cassano T, Ferraro L, Antonelli T, et al. Prenatal exposure to the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 increases glutamate uptake through overexpression of GLT1 and EAAC1 glutamate transporter subtypes in rat frontal cerebral cortex. *Neuropharmacology.* 2007;53(3):369-78.
43. Mereu G, Fa M, Ferraro L, Cagiano R, Antonelli T, Tattoli M, et al. Prenatal exposure to a cannabinoid agonist produces memory deficits linked to dysfunction in hippocampal long-term potentiation and glutamate release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(8):4915-20.
44. Beggiato S, Borelli AC, Tomasini MC, Morgano L, Antonelli T, Tanganelli S, et al. Long-lasting alterations of hippocampal GABAergic neurotransmission in adult rats following perinatal Delta (9)-THC exposure. *Neurobiol Learn Mem.* 2017; 139:135-43.
45. Fried PA, Watkinson B, Gray R. Growth from birth to early adolescence in offspring prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicol Teratol.* 1999;21(5):513-25.
46. Goldschmidt L, Richardson GA, Willford J, Day NL. Prenatal marijuana exposure and intelligence test performance at age 6. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2008;47(3):254-63.
47. Fried PA, Watkinson B, Gray R. Differential effects on cognitive functioning in 13- to 16-year-olds prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicol Teratol.* 2003;25(4):427-36.
48. Goldschmidt L, Richardson GA, Willford JA, Severtson SG, Day NL. School achievement in 14-year-old youths prenatally exposed to marijuana. *Neurotoxicol Teratol.*



- 
- 2012;34(1):161-7.
49. Goldschmidt L, Day NL, Richardson GA. Effects of prenatal marijuana exposure on child behavior problems at age 10. *Neurotoxicol Teratol.* 2000;22(3):325-36.
  50. El Marroun H, Hudziak JJ, Tiemeier H, Creemers H, Steegers EA, Jaddoe VW, et al. Intrauterine cannabis exposure leads to more aggressive behavior and attention problems in 18-month-old girls. *Drug Alcohol Depend.* 2011;118(2-3):470-4.
  51. Fried PA, Watkinson B, Gray R. Differential effects on cognitive functioning in 9- to 12-year olds prenatally exposed to cigarettes and marihuana. *Neurotoxicol Teratol.* 1998;20(3):293-306.
  52. Day NL, Leech SL, Goldschmidt L. The effects of prenatal marijuana exposure on delinquent behaviors are mediated by measures of neurocognitive functioning. *Neurotoxicol Teratol.* 2011;33(1):129-36.
  53. Frank DA, Rose-Jacobs R, Crooks D, Cabral HJ, Gerteis J, Hacker KA, et al. Adolescent initiation of licit and illicit substance use: Impact of intrauterine exposures and post-natal exposure to violence. *Neurotoxicol Teratol.* 2011;33(1):100-9.
  54. Porath AJ, Fried PA. Effects of prenatal cigarette and marijuana exposure on drug use among offspring. *Neurotoxicol Teratol.* 2005;27(2):267-77.
  55. Day NL, Goldschmidt L, Thomas CA. Prenatal marijuana exposure contributes to the prediction of marijuana use at age 14. *Addiction.* 2006;101(9):1313-22.
  56. Day NL, Goldschmidt L, Day R, Larkby C, Richardson GA. Prenatal marijuana exposure, age of marijuana initiation, and the development of psychotic symptoms in young adults. *Psychol Med.* 2015;45(8):1779-87.
  57. Sonon KE, Richardson GA, Cornelius JR, Kim KH, Day NL. Prenatal marijuana exposure predicts marijuana use in young adulthood. *Neurotoxicol Teratol.* 2015; 47:10-5.
  58. Gonzalez B, de Miguel R, Martin S, Perez-Rosado A, Romero J, Garcia-Lecumberri C, et al. Effects of perinatal exposure to delta 9-tetrahydrocannabinol on operant morphine-reinforced behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003;75(3):577-84.
  59. Calvigioni D, Hurd YL, Harkany T, Keimpema E. Neuronal substrates and functional consequences of prenatal cannabis exposure. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2014;23(10):931-41.

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

**AGRADECIMIENTOS:**

Al "Plan Nacional Sobre Drogas" (Plan Nacional sobre adicciones – Ministerio de Salud Español) por el apoyo científico y económico.

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

[jmanzanares@umh.es](mailto:jmanzanares@umh.es)

[fnavarrete@umh.es](mailto:fnavarrete@umh.es)

[maria.ggutierrez@umh.es](mailto:maria.ggutierrez@umh.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/>)