



## RESUMEN CIENTÍFICO-TÉCNICO FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

**EXPEDIENTE: 2019I021**

**TÍTULO DEL PROYECTO: ESTUDIO DE BIOMARCADORES DE VULNERABILIDAD A LA  
PSICOSIS**

**INVESTIGADOR PRINCIPAL: LEYRE URIGÜEN ECHEVERRIA**

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

**CAROLINA MUGURUZA MILLÁN**

**REBECA DIEZ ALARCIA**

**ALFREDO RAMOS MIGUEL**

**JAVIER MEANA MARTINEZ**

**ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:**

**UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

---

### **RESUMEN (1) (2):**

El cannabis es la droga ilegal más consumida a nivel global y la prevalencia del consumo de cannabis en Europa es cinco veces superior a la de otras sustancias. Numerosos estudios sugieren que el consumo de cannabis es un factor de riesgo para el desarrollo de psicosis y otros trastornos psiquiátricos. Estos datos sugieren una relación causal entre el consumo de cannabis y el desarrollo de psicosis ya que el riesgo de desarrollar la enfermedad aumenta con la frecuencia del consumo. Según un estudio realizado en una muestra de más de 2000 sujetos con primer episodio psicótico, el 46% consumían cannabis. El Grupo de Investigación solicitante ha descrito recientemente los mecanismos moleculares por los cuales la administración crónica de THC durante la adolescencia induce alucinaciones y psicosis (*Ibarra-Lecue et al. Neuropsychopharmacology. 2018, 43, 2028-2035*). Los resultados de este trabajo demuestran que el receptor alucinógeno de serotonina 5HT2A modifica su señalización hacia una señalización pro-alucinógena tras la administración crónica de THC en ratones jóvenes. Esta señalización pro-alucinógena del receptor 5HT2A se vehicula a través de proteínas Gi en lugar de la vía canónica mediante proteínas Gq. Además, los resultados demuestran que el cannabis induce este cambio hacia una señalización pro-alucinógena del receptor 5HT2A a través de la vía Akt/mTOR/S6, probablemente modulando la morfología dendrítica y la plasticidad sináptica.

A la vista de todos los datos anteriormente expuestos, es posible hipotetizar que los individuos consumidores de cannabis que desarrollan un primer episodio psicótico, e incluso un trastorno

---



---

esquizofrénico, tendrían alteraciones en la señalización del receptor 5HT2A y de la vía Akt/mTOR/S6 que les sensibilizaría a los efectos del cannabis. Además, existirían diferencias de género a dicha susceptibilidad. En este contexto el objetivo del presente proyecto es validar un biomarcador que nos permita hacer una prevención selectiva del consumo de cannabis en sujetos predispuestos a desarrollar psicosis. Para ello se evaluará el estado de la señalización del receptor 5HT2A y la vía Akt/mTOR/S6 en plaquetas y epitelio olfativo de sujetos consumidores de cannabis con y sin diagnóstico de psicosis/esquizofrenia y sus controles.

**ABSTRACT (English):**

Cannabis is the most widely used illegal drug globally and the prevalence of cannabis use in Europe is five times higher than that of other substances. Numerous studies suggest that cannabis use is a risk factor for the development of psychosis and other psychiatric disorders. These data suggest a causal relationship between cannabis use and the development of psychosis, since the risk of developing the disease increases with the frequency of use. According to a study carried out on a sample of more than 2,000 subjects with a first psychotic episode, 46% used cannabis. The applicant Research Group has recently described the molecular mechanisms by which the chronic administration of THC during adolescence induces hallucinations and psychosis (Ibarra-Lecue et al. *Neuropsychopharmacology*. 2018, 43, 2028-2035). The results of this work demonstrate that the hallucinogenic serotonin 5HT2A receptor modifies its signaling towards pro-hallucinogenic signaling after chronic THC administration in young mice. This pro-hallucinogenic signaling of the 5HT2A receptor is conveyed through Gi proteins instead of the canonical pathway through Gq proteins. Furthermore, the results demonstrate that cannabis induces this switch towards pro-hallucinogenic 5HT2A receptor signaling via the Akt/mTOR/S6 pathway, probably by modulating dendritic morphology and synaptic plasticity.

In view of all the data previously exposed, it is possible to hypothesize that individuals who consume cannabis who develop a first psychotic episode, and even a schizophrenic disorder, would have alterations in the signaling of the 5HT2A receptor and of the Akt/mTOR/S6 pathway that would sensitize them to the effects of cannabis. In addition, there would be gender differences in this susceptibility. In this context, the objective of this project is to validate a biomarker that allows us to selectively prevent cannabis use in subjects predisposed to developing psychosis. To this end, the signaling status of the 5HT2A receptor and the Akt/mTOR/S6 pathway in platelets and olfactory epithelium of cannabis-consuming subjects with and without a diagnosis of psychosis/schizophrenia and their controls will be evaluated.

**PALABRAS CLAVE (3):**

CANNABIS, PREVENCIÓN, PSICOSIS, ESQUIZOFRENIA

**KEY WORDS (English):**

CANNABIS, PREVENTION, PSYCHOSIS, SCHIZOPHRENIA

**JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:**

El consumo de cannabis precipita el desarrollo de psicosis en individuos predispuestos. Esta predisposición viene determinada por alteraciones en la señalización de los receptores 5HT2A inducidas por alteraciones en la funcionalidad de la vía de señalización Akt/mTOR/S6. Además, la disfunción de la vía de señalización Akt/mTOR/S6 desemboca en una desorganización dendrítica y en alteraciones en la conectividad sináptica que podrían contribuir, en parte, al desarrollo de la sintomatología de la esquizofrenia.

OBJETIVO GENERAL: Se pretende identificar un nuevo biomarcador para la prevención selectiva de desarrollo de psicosis/esquizofrenia en consumidores de cannabis.

Objetivo 1. Obtención de plaquetas y proneuronas de epitelio olfativo de sujetos con primeros episodios psicóticos con y sin abuso de cannabis para el desarrollo de posibles biomarcadores de vulnerabilidad.

---



---

Objetivo 2. Evaluar las diferencias moleculares existentes en el estado de señalización de los receptores 5HT2A y de la vía Akt/mTOR/S6 entre los sujetos con primeros episodios psicóticos y con abuso de cannabis y los sujetos con primeros episodios psicóticos sin abuso de cannabis, tratados y no tratados con fármacos antipsicóticos. Para ello se evaluará la densidad, funcionalidad y acoplamiento funcional a proteínas G de los receptores 5-HT2A así como los niveles de expresión proteica total y fosforilada de las proteínas de la vía Akt/mTOR/S6 en plaquetas y proneuronas del epitelio olfativo.

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

Para la realización del Proyecto se utilizarán plaquetas (a partir de sangre periférica) y pro-neuronas del epitelio olfativo de sujetos (hombres y mujeres) consumidores y no de cannabis, con y sin psicosis y sus controles.

Se evaluará en cada tipo celular, la señalización de los receptores de serotonina 5HT2A mediante el estudio del acople funcional de dichos receptores a los diferentes subtipos de subunidades de las proteínas G. Para ello se realizarán la técnica de SPA (Scintillation Proximity Assay) bien establecida en el laboratorio. La técnica SPA consiste en estudiar la fijación de radioligandos ([35S]GTPγS) acoplada a inmunoprecipitación de cada uno de los subtipos de proteínas G: Gq/11 y Gi/o.

Por otro lado, se determinará para cada tipo celular, el estado y la funcionalidad de la vía de señalización Akt/mTOR/S6. Para ello se estudiarán los niveles de expresión proteica mediante western-blot utilizando anticuerpos específicos para Akt, mTOR y S6 y sus formas activas fosforiladas.

Las comparaciones entre los diferentes grupos se realizarán utilizando métodos estadísticos clásicos (t-test, ANOVA, regresiones simples, ANCOVA, etc.).

#### **PRINCIPALES RESULTADOS:**

Los resultados mostraron que tanto la expresión de los receptores 5-HT2A como la expresión de la proteína fosfo (Ser473) Akt activa en plaquetas aumentaron significativamente en los sujetos con esquizofrenia, mientras que los pacientes con un diagnóstico dual de esquizofrenia y trastorno por consumo de cannabis no mostraron cambios significativos. De manera similar, las concentraciones plasmáticas de anandamida y otros mediadores lipídicos como la PEA y la DEA, así como la IL-6, aumentaron significativamente en la esquizofrenia, pero no en los sujetos duales. Los resultados demuestran que los sujetos con esquizofrenia muestran diferente patrón de marcadores plasmáticos circulantes según el diagnóstico asociado de trastorno por consumo de cannabis, lo que respalda la hipótesis de que podría haber diferentes mecanismos subyacentes que pueden explicar las diferencias clínicas entre estos grupos.

Por otro lado, el análisis metabolómico destaca la presencia de dos endocannabinoides (PEA, OEA), nicotina y cotinina como biomarcadores del consumo de tabaco y nor-9-carboxi-Δ9-THC como biomarcador del consumo de cannabis. Además, algunas acilcarnitinas de cadena media (C8/C10) comparten un patrón común en los tres grupos de estudio. El uso del enfoque metabolómico proporciona una visión profunda para evaluar el perfil metabolómico y descubrir potenciales biomarcadores en sujetos con esquizofrenia y sujetos con trastorno por consumo de cannabis.

Además, se ha demostrado que el cultivo, diferenciación y caracterización de las proneuronas del epitelio olfativo es un buen sustrato para el estudio de la esquizofrenia y el trastorno por uso de cannabis.



---

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

El presente Proyecto traslacional pretende aportar información sobre las bases biológicas de la susceptibilidad al desarrollo de psicosis y/o esquizofrenia inducida por el consumo de cannabis. La demostración de la hipótesis propuesta otorgaría un sustrato biológico clave para la prevención del consumo de cannabis en individuos que presentaran alteraciones en la señalización del receptor 5HT<sub>2A</sub> y la vía Akt/mTOR/S6 y fueran por tanto susceptibles a desarrollar esquizofrenia si consumen cannabis. La implicación de la vía de señalización Akt/mTOR/S6 abre posibilidades de manipulación farmacológica y de análisis de potenciales biomarcadores de susceptibilidad en humanos.

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

- La vía de la Akt/mTOR/S6 está desregulada en las plaquetas y neuronas del epitelio olfativo de sujetos con esquizofrenia y consumo de cannabis
- Existen marcadores plasmáticos circulantes como la IL-6, la AEA y algunas acilcarnitinas que podrían servir para la estratificación de los sujetos con esquizofrenia y con un diagnóstico de trastorno por uso de cannabis
- Las neuronas y células de la glía derivadas del neuroepitelio olfativo de sujetos con esquizofrenia y consumo de cannabis es un buen sustrato para la búsqueda de biomarcadores que permitan la estratificación de los pacientes.

#### **PUBLICACIONES CIENTÍFICAS GENERADAS (4):**

Ibarra-Lecue I, Unzueta-Larrinaga P, Barrena-Barbadillo R, Villate A, Horrillo I, Mendivil B, Landabaso MA, Meana JJ, Etxebarria N, Callado LF, Urigüen L. Cannabis use selectively modulates circulating biomarkers in the blood of schizophrenia patients. *Addict Biol.* 2022 Nov;27(6):e13233. doi: 10.1111/adb.13233. PMID: 36301212; PMCID: PMC9539611.

Unzueta-Larrinaga P, Barrena-Barbadillo R, Ibarra-Lecue I, Horrillo I, Villate A, Recio M, Meana JJ, Diez-Alarcia R, Mentxaka O, Segarra R, Etxebarria N, Callado LF, Urigüen L. Isolation and Differentiation of Neurons and Glial Cells from Olfactory Epithelium in Living Subjects. *Mol Neurobiol.* 2023 Aug;60(8):4472-4487. doi: 10.1007/s12035-023-03363-2. Epub 2023 Apr 28. PMID: 37118325; PMCID: PMC10293402.

Villate A., Olivares M., Usobiaga A., Unzueta-Larrinaga P., Barrena-Barbadillo R., Callado L.F. Etxebarria N., Urigüen L. Serum Metabolomic Profile in Schizophrenia and Cannabis Use Disorder (under review)

Paula Unzueta-Larrínaga, Rocío Barrena-Barbadillo, Estibaliz Olabarrieta, Igor Horrillo, Idoia Burgui, Ricardo Ramos, Rebeca Diez-Alarcia, Maria Recio, J Javier Meana, Oihane Mentxaka, Rafael Segarra, Luis F Callado and Leyre Urigüen. Schizophrenia-associated neurodevelopmental fingerprint in human neural progenitor cells (in preparation).



---

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

1. 20 Reunión anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. Barcelona, 21-23 Noviembre 2019. "Discovering the relationship between schizophrenia and cannabis use: Differential AKT functional status and 5-HT2AR expression in platelets of patients". Ibarra-Lecue I.; Barrena-Barbadillo R.; Unzueta-Larrinaga P.; Díez-Alarcia R.; Landabaso M.A.; Mendibil B.; Callado L.F.; Urigüen L. Libro de Resúmenes de la Reunión p.43.
  2. 34th ECNP Congress. Lisboa, 2-5 Octubre 2021. "Cannabis abuse differently regulates 5-HT2A receptors and Akt protein in platelets of subjects with schizophrenia". Unzueta-Larrinaga P.; Ibarra-Lecue I.; Barrena-Barbadillo R.; Díez-Alarcia R.; Landabaso M.A.; Mendibil B.; Callado L.F.; Urigüen L. European Neuropsychopharmacology 53 p. S666-667.
  3. 21 Reunión anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. Malaga, 25-27 Noviembre 2021. "Quantification of plasmatic levels of endocannabinoids in subjects with schizophrenia with and without cannabis abuse". Unzueta-Larrinaga P.; Calvo A.; Villate A.; Barrena-Barbadillo R.; Etxebarria N.; Callado L.F.; Urigüen L. Libro de Resúmenes de la Reunión p.83.
  4. Presentación de Resultados en Master de Medicina Traslacional, Universidad Complutense de Madrid, 18 febrero 2022.
  5. Congress of the Schizophrenia International Research Society (SIRS) 2022. Florencia, 6-10 Abril 2022. "Discovering the molecular mechanisms underlying cannabis-induced increased risk for schizophrenia: differential Akt functional status and 5-HT2AR expression in platelets of schizophrenia subjects with or without cannabis abuse". Unzueta-Larrinaga P.; Ibarra-Lecue I.; Barrena-Barbadillo R.; Díez-Alarcia R.; Landabaso M.A.; Mendibil B.; Callado L.F.; Urigüen L. Abstract book p. 61-62.
  6. 32nd Annual Symposium of the International Cannabinoid Research Society. Galway, 25-30 junio 2022. "Endocannabinoids plasma levels in subjects with schizophrenia with and without cannabis use disorder". Unzueta-Larrinaga P.; Calvo A.; Villate A.; Barrena-Barbadillo R.; Etxebarria N.; Callado L.F.; Urigüen L. Abstract book p. 269.
  7. 32nd Annual Symposium of the International Cannabinoid Research Society. Galway, 25-30 junio 2022. "5-HT2AR and Akt protein expression is differently regulated by cannabis abuse in platelets of schizophrenia subjects". Callado L.F.; Ibarra-Lecue I.; Unzueta-Larrinaga P.; Barrena-Barbadillo R.; Mendibil B.; Landabaso M.A.; Urigüen L. Abstract book p. 314.
  8. Basque Neuroscience Meeting Neurogune 2022. Iruña/Pamplona, 1 julio 2022. "Characterization of a technique for obtaining neurons and glia from the olfactory neuroepithelium of living subjects". Unzueta-Larrinaga, P.; Callado L.F.; Urigüen L. Abstract book p.138.
  9. 12th IACM Conference on Cannabinoids in Medicine. Basilea, 20-21 octubre 2022. "Metabolomic approach of plasma samples from schizophrenia patients and cannabis consumers". Villate, A.; Etxebarria, N.; San Nicolas, M.; Usobiaga, A.; Olivares, M.; Unzueta-Larrinaga, P.; Barrena-Barbadillo, R.; Callado L.F.; Urigüen L. Med Cannabis Cannabinoids 5: 177.
  10. 22 Reunión anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. Pamplona, 24-26 Noviembre 2022. "Therapeutic use of cannabis: Encapsulation of bioactive compounds and study of the endocannabinoid system". Villate, A.; San Nicolas, M.; Barreto P.G.; Olivares, M.; Etxebarria, N.; Aizpurua-Olaizola O.; Usobiaga, A.; Unzueta-Larrinaga, P.; Barrena-Barbadillo, R.; Callado L.F.; Urigüen L. Libro de Resúmenes de la Reunión p.43.
-



---

11. 22 Reunión anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. Pamplona, 24-26 Noviembre 2022. "Functional selectivity of THC, WIN55, 212-2, HU-210 and CBD through cannabinoid receptors in postmortem human brain cortex". Díez-Alarcia R.; Bedia A.; Callado L.F.; Urigüen L. Libro de Resúmenes de la Reunión p.68.

12. ECNP Workshop for Early Career Scientists in Europe 2023. Niza, 16-19 Marzo 2023. "Obtaining neurons and glia from the olfactory neuroepithelium of living subjects for the study of psychiatric diseases". Unzueta-Larrinaga P.; Barrena-Barbadillo R.; Callado L.F.; Urigüen L. European Neuroscience Applied 2 (Suppl. 1): 101026.

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

Gobierno Vasco, Grupos Consolidados, referencia: IT1211-19 y IT512-22

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

[leyre.uriguen@ehu.eus](mailto:leyre.uriguen@ehu.eus)

---

**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 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/?amp=&depth=2>).