



RESUMEN FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

EXPEDIENTE: 2016I002

TÍTULO DEL PROYECTO: Riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica en el consumo de cocaína durante la adolescencia: prevención selectiva mediante tratamiento farmacológico

INVESTIGADOR PRINCIPAL: M. Julia García Fuster

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

Rubén García Cabrerizo

Jesús A. García Sevilla

ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:

Universidad de las Islas Baleares

Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS)

RESUMEN (1) (2): Este proyecto ha evaluado en modelos animales los daños asociados al consumo de cocaína en dos poblaciones vulnerables (riesgo de psicopatología previa e inicio temprano en el consumo durante la adolescencia), así como los resultados del posible proceso terapéutico. En particular, la exposición a estrés a edades tempranas se modeló en ratas mediante la privación materna (24 h, día postnatal PND 9). Posteriormente, se administró cocaína (15 mg/kg, i.p., 7 días) durante la ventana de vulnerabilidad adolescente (PND 33-39) para estudiar los daños asociados al consumo (consecuencias conductuales y neuroquímicas) inmediatas en la adolescencia, y persistentes a largo plazo en la etapa adulta. Como consecuencias conductuales se evaluaron tests de depresión, ansiedad y anhedonia. Como diana de estudio neuroquímica se evaluó la neurogénesis hipocámpal, afectada en procesos adictivos y psicopatologías (depresión, ansiedad). Además, se evaluó el potencial terapéutico de dos fármacos neuroprotectores, el cannabidiol (un fitocannabinoide no-psicomimético derivado de *Cannabis sativa*) y la nortriptilina (antidepresivo tricíclico), ya que ambos fármacos parecen mejorar la sintomatología negativa en trastornos psiquiátricos en parte mediante el incremento de la neurogénesis hipocámpal. El efecto terapéutico de estos fármacos se evaluó de manera selectiva durante la adolescencia (antes del consumo de cocaína) para reducir los riesgos y daños asociados al consumo de cocaína. Los resultados más relevantes han demostrado que la privación materna en ratas a edades tempranas, a pesar de no inducir cambios conductuales afectivos durante la adolescencia, ejerce un impacto negativo en la etapa adulta (i.e., fenotipo pro-depresivo). Además, la administración de cocaína en la etapa adolescente, tampoco indujo cambios conductuales inmediatos durante la adolescencia, pero ejerció efectos a largo plazo en la rata adulta (i.e., fenotipo pro-ansioso), reforzando el impacto negativo que induce iniciar el consumo de cocaína durante la adolescencia sobre las conductas depresivas que emergen durante la abstinencia y que pueden conllevar a mayores índices de recaída y a una mayor vulnerabilidad a desarrollar una adicción. Cuando la privación materna se combinó con la cocaína en la adolescencia, se observó un efecto pro-ansioso en la etapa adolescente, demostrando que la



acumulación de diversos factores de estrés puede anticipar la aparición de conductas afectivas negativas y tener un peor impacto global. Finalmente, la administración de cannabidiol demostró un buen potencial terapéutico ya que mejoró el impacto negativo conductual de ambos factores de vulnerabilidad (privación maternal y cocaína). En este contexto, últimamente se ha prestado mucha atención al potencial medicinal de derivados del cannabis para el tratamiento de una serie de trastornos psiquiátricos, aunque las conclusiones de su eficacia son aún prematuras. Los resultados de este proyecto demuestran por tanto efectos pro-ansiolíticos y pro-hedónicos del cannabidiol en ratas y dan apoyo a su potencial terapéutico para mejorar la conducta negativa derivada del consumo de cocaína en una población vulnerable por exposición temprana a estrés.

ABSTRACT (English): This proposal evaluated in rodents the negative impact of combining two vulnerability factors that might predispose to addictive-like behaviors, such as a prior psychiatric disorder or early drug initiation during adolescence, and evaluated possible therapeutic approaches to improve such impacts. In particular, early life stress was modeled in rats by maternal deprivation (24 h on postnatal day PND 9), and cocaine was administered during adolescence (15 mg/kg, i.p., 7 days, PND 33-39) to later study the immediate and long-term behavioral and neurochemical consequences of these procedures. At the behavioral level, we evaluated depressive-, anxiety- and anhedonic-like responses. At the molecular level, we evaluated cell markers of the neurogenic process, since hippocampal neurogenesis is diminished in addiction and other psychopathologies (depression, anxiety). Moreover, this proposal evaluated the therapeutic potential of two neuroprotective drugs, cannabidiol (a phytocannabinoid non-psychotomimetic extracted from *Cannabis sativa*) and nortriptyline (a tricyclic antidepressant), since these drugs seemed to improve negative affect in psychiatric disorders in part by increasing hippocampal neurogenesis. The potential improvements induced by these drugs were evaluated selectively during adolescence (before cocaine exposure) in an attempt to reduce the risks and damages caused by cocaine. The main results demonstrated that maternal deprivation in rats at early age, although showed no behavioral changes during adolescence, induced long-term changes in affect in adulthood (i.e., pro-depressive-like phenotype). Similarly, cocaine exposure during adolescence did not induce changes in affective-like behavior immediately during adolescence, but it induced persistent changes in adulthood (i.e., anxiety-like phenotype), reinforcing the notion that increased negative affect during withdrawal might mediate higher relapse rates and a higher vulnerability to develop an addictive-like phenotype. When maternal deprivation was combined with adolescent cocaine exposure, the negative effects over affect anticipated to the adolescent period (i.e., anxiety-like phenotype), suggesting that the accumulation of stress anticipates the manifestation of negative affect and thus the vulnerability to a broader impact of cocaine. Finally, cannabidiol showed great therapeutic potential since it improved the combined effects of maternal deprivation and cocaine at the behavioral level. In this context, in the last years a lot of attention has been given to the use of medicinal cannabis, cannabidiol among other compounds, to treat psychiatric disorders, although its efficacy is still premature. Our results demonstrated anxiolytic- and pro-hedonic-like effects of cannabidiol in rats, reinforcing its therapeutic potential to improve the negative affect associated with cocaine use.

PALABRAS CLAVE (3):

Comorbilidad psiquiátrica, adolescencia, cocaína

KEY WORDS (English):

Psychiatric comorbidity, adolescence, cocaine

JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:

Como hipótesis principal se postuló que el riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica (i.e., estrés a edad temprana) incrementaría los efectos negativos inducidos por el posterior consumo de cocaína durante la adolescencia (etapa vulnerable PND 33-39) en los daños asociados al consumo



(consecuencias conductuales y neuroquímicas) inmediatos durante la etapa adolescente. La finalidad de este proyecto era investigar en animales de experimentación los objetivos propuestos más abajo.

Objetivos específicos:

El objetivo global de este proyecto era investigar en modelos animales de dos poblaciones vulnerables (riesgo de psicopatología, adolescentes) los efectos inmediatos de la administración de cocaína sobre la expresión de una comorbilidad psiquiátrica y adaptaciones neuronales (ej., neurogénesis en hipocampo). Además, se quisieron prevenir los efectos dañinos a nivel conductual y neuroquímico mediante el tratamiento preventivo con un fármaco neuroprotector de elección antes de la exposición a cocaína.

Los dos primeros objetivos, detallados a continuación, se centraron en caracterizar el modelo animal de estudio y en seleccionar el fármaco a utilizar respectivamente.

1. Estudiar el riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica (ej., tests de depresión, ansiedad y anhedonia) en la rata adolescente inducido por el modelo animal de elección: efecto del estrés a edad temprana (i.e., 24 h de privación maternal a PND 9).
2. Estudiar los efectos de los tratamientos agudos y/o crónicos con los fármacos propuestos (cannabidiol y nortriptilina) en rata adolescente: efectos conductuales (ej., tests de depresión, ansiedad y anhedonia) y adaptaciones neuronales cuando conducta alterada (ej., neurogénesis).

Una vez caracterizado el modelo animal a utilizar y seleccionado el fármaco (ej., dosis y longitud del tratamiento), los dos últimos objetivos se centran en evaluar la hipótesis del proyecto.

3. Estudiar en animales con riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica el efecto del consumo de cocaína durante una ventana de vulnerabilidad adolescente (PND 33-39) en los daños inmediatos asociados al consumo (consecuencias conductuales y neuroquímicas).
4. Estudiar los efectos del tratamiento seleccionado (fármaco, dosis y longitud del tratamiento) sobre la mejora y/o prevención de las consecuencias derivadas del consumo de cocaína en la adolescencia (PND 33-39) en animales con riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica.

METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL PROYECTO. ANALISIS ESTADÍSTICO :

Para lograr los objetivos propuestos utilizaron ratas macho Sprague-Dawley criadas en el estabulario de la Universidad de las Islas Baleares, mantenidas en condiciones controladas y con libre acceso a comida y agua según mandan las directrices locales del Comité de Ética.

1. Estudiar el riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica (ej., tests de depresión, ansiedad y anhedonia) en la rata adolescente inducido por el modelo animal de elección: efecto del estrés a edad temprana (ie., 24 h de privación maternal a PND 9). Para abordar este objetivo (véase diagrama experimental más abajo) se evaluaron 2 tandas de 3 camadas cada una (monitorizar fecha de nacimiento PND 0) para cada uno de los dos grupos experimentales: (1) 2 camadas para las ratas control (n=27 crías) y (2) 4 camadas sometidas a privación maternal en PND 9 durante 24 h (n=.44 crías) Las madres se sacaron de las jaulas a las 9:00 h. Las crías se pesaron y se quedaron en sus jaulas durante 24 h en la misma habitación. Al día siguiente, PND 10, las crías se pesaron de nuevo y las madres volvieron a la jaula. Las madres de las crías de los grupos control se sacaron momentáneamente de las jaulas para que las crías control se pesaran también en PND 9 y PND 10. Posteriormente, las ratas se separaron de la madre a PND 21 y los machos fueron seleccionados para su estudio. Los grupos experimentales obtenidos fueron: control-macho (n=14), MD-macho (n=22), control-hembra (n=13), MD-hembra (n=22). Tras dos días de habituamiento al manejo experimental (PND 22-23), las ratas se fenotiparon durante la adolescencia temprana: test de 'depresión' o 'desespero conductual' mediante el test de



natación forzada (FST; PND 24-25); test de 'ansiedad' mediante el test del campo abierto (OF; PND 27); test de 'anhedonia' mediante el test de preferencia de dos botellas (PND 31-32). A las 24 h las ratas se sacrificaron (PND 33) y los cerebros se extrajeron para el posterior análisis neuroquímico. Además, dado que el modelo de privación maternal no indujo cambios conductuales en ratas macho durante la adolescencia, se decidió repetir el experimento, pero evaluando la conducta a lo largo de las distintas etapas del desarrollo (i.e., adolescencia) y hasta la adultez (i.e., medidas repetidas de los tests conductuales descritos en este objetivo) en ratas macho y hembra (véanse resultados en el apartado Principales Resultados).

2. Estudiar los efectos de los tratamientos agudos y/o crónicos con los fármacos propuestos (cannabidiol y nortriptilina) en rata adolescente: efectos conductuales (ej., tests de depresión, ansiedad y anhedonia) y adaptaciones neuronales cuando conducta alterada (ej., neurogénesis). Los experimentos se realizaron durante la etapa adolescente. Para el primer estudio con cannabidiol se evaluaron 3 grupos experimentales: control y cannabidiol (3, 10 mg/kg, i.p., 7 días, PND 27-33). Se evaluaron los efectos de este fármaco en los tests objeto de estudio descritos anteriormente: FST (PND 34-35); OF (PND 37); test de preferencia de sacarosa al 1% (PND 39-42). Dado que se observaron efectos en el FST (i.e., disminución de la inmovilidad y aumento del tiempo de actividad) mediados por la dosis de 10 mg/kg de cannabidiol, se decidió a observar cuánto tiempo duraba dicho efecto y se repitió el test de natación forzada dos semanas tras la última dosis de fármaco (PND 47). A las 24 h las ratas se sacrificaron (PND 48) y los cerebros se extrajeron para el posterior análisis neuroquímico. Por otro lado, se evaluó el potencial antidepressivo y neuroprotector de la nortriptilina en rata adolescente (véase efecto antidepressivo tras tratamiento repetido con la dosis de 3 mg/kg en el apartado Principales Resultados).

3. Estudiar en animales con riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica el efecto del consumo de cocaína durante una ventana de vulnerabilidad adolescente (PND 33-39) en los daños inmediatos y a largo plazo (**nuevo objetivo**) asociados al consumo (consecuencias conductuales y neuroquímicas). Para abordar este objetivo se utilizaron 6 camadas (monitorizar fecha de nacimiento PND 0) de las cuales 3 camadas fueron para ratas control y las otras 3 camadas fueron sometidas a privación maternal (MD) en PND 9 durante 24 h. Posteriormente, las ratas se separarán de la madre a PND 21 y los machos se seleccionaron para su estudio. Las ratas, tras dos días de habituamiento al manejo experimental (PND 23-24), se fenotiparon en el test de natación forzada FST (i.e., niveles basales de inmovilidad o conducta pro-depresiva, PND 25-26) y luego se dejaron estabuladas hasta el período adolescente vulnerable, en el cual las ratas de cada grupo (control vs. MD) se dividieron en 2 grupos experimentales. La mitad de las ratas se trataron con salino (0,9% NaCl, i.p., 7 días) y la otra mitad con cocaína de manera repetida (15 mg/kg, i.p., 7 días) (PND 33-39, ventana de vulnerabilidad obtenida de los resultados del proyecto 2012/011), de manera que hubo 4 grupos experimentales: control-salino, control-cocaína, MD-salino, MD-cocaína. Posteriormente, se evaluarán los efectos de las condiciones experimentales en los tests objeto de estudio descritos anteriormente: FST (PND 40); NSF o novelty suppressed feeding (PND 43); test de preferencia de sacarosa al 1% (PND 46-47). Dado que no se observaron muchos cambios durante la adolescencia y que los efectos nocivos de la privación maternal parecen emerger en rata adulta, las ratas se dejaron estabuladas hasta PND 71, donde recibieron una inyección de cocaína (15 mg/kg, i.p.) y fueron re-expuestas al FST 45 min después, al NSF en PND 74 y al test de sacarosa en PND 77-78. Este paradigma de administración de cocaína seguido del FST a los 45 min se repitió de nuevo en PND 98. A las 24 h las ratas se sacrificaron (PND 99) y los cerebros se extrajeron para su posterior análisis neuroquímico (p. ej., neurogénesis hipocampal). Este análisis únicamente se está realizando para los grupos experimentales con conducta alterada. Además, se ha realizado un experimento no propuesto inicialmente donde se ha estudiado el impacto de la privación maternal en combinación con la administración de cocaína durante la etapa adulta.

4. Estudiar los efectos del tratamiento seleccionado (fármaco, dosis y longitud del tratamiento)



sobre la mejora y/o prevención de las consecuencias derivadas del consumo de cocaína en la adolescencia (PND 33-39) en animales con riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica. En base a los resultados del **Objetivo 2**, como fármaco de elección se eligió el cannabidiol (dosis de 10 mg/kg) administrado en la adolescencia como un pre-tratamiento a la administración diaria de cocaína (véase diseño experimental en **Figura 14** en el apartado Principales Resultados). Los efectos beneficiosos del cannabidiol se presentan en el apartado de resultados (véase Figura 15) y se han publicado en Bis-Humbert et al. (2020).

Recogida de muestras cerebrales:

Una vez finalizado los distintos diseños experimentales, las ratas se decapitaron y se guardaron las muestras de interés. Por un lado, el hemisferio izquierdo se congeló rápidamente en isobutano a -20°C para su posterior disección para hacer estudios de neurogénesis en el hipocampo, que es el principal biomarcador de estudio. Por otro lado, se diseccionó el hipocampo del otro hemisferio para su posterior análisis molecular. Las posibles dianas de estudio seleccionadas están relacionadas con la regulación de neurogénesis hipocámpal y son marcadores de neurotoxicidad y/o supervivencia y/o proliferación celular y vienen detalladas a continuación: FADD (diana pro-apoptótica), p-FADD (como un índice de neuroplasticidad), PARP1 ("poly (ADP-ribose) polimerase 1", marcador de la fragmentación del ADN, muerte celular), cdk5 ("cyclin-dependent kinase 5", papel en la regulación de neurogénesis), BDNF ("brain-derived neurotrophic factor", papel en la supervivencia celular), NFκB ("nuclear factor kappa B, factor de transcripción que regula la respuesta celular), Arc ("activity-regulated cytoskeleton-associated protein", marcador de espinas dendríticas), PSD-95 ("post-synaptic density 95", marcador de la activación neuronal), así como la proteína quinasa mTOR ("mammalian target of rapamycin", regula el destino celular).

Neurogénesis en hipocampo por técnicas inmunohistoquímicas:

Para cada rata (grupos experimentales seleccionados con conducta alterada) se seccionó la totalidad del hipocampo izquierdo a un grosor de 30 μm en portas en series de 8. Para determinar el índice de proliferación celular en el hipocampo en el momento de sacrificio de los animales se realizó un marcaje con el anticuerpo Ki-67, un marcador intrínseco de proliferación celular durante las fases activas del ciclo celular (G1-M). Para determinar los índices de neurogénesis en el hipocampo se utilizó el anticuerpo NeuroD que detecta células con un fenotipo de neurona joven (ej., al menos 5-7 días de edad). La detección de células marcadas con Ki-67 y NeuroD se realizó por técnicas inmunohistoquímicas (véase García-Fuster et al., 2011 para más detalle). Las células inmunopositivas se contaron en el giro dentado del hipocampo con un microscopio Leica DMR a lo largo del grosor de la sección tisular utilizando un objetivo de 63X.

Inmunodetección y cuantificación de proteínas diana por técnicas de western blot:

Las proteínas diana se cuantificaron mediante técnicas inmunológicas cuantitativas (separación electroforética seguida de Western blot), empleando anticuerpos específicos y tal como se ha descrito en estudios precedentes (García-Cabrerizo et al., 2015; García-Cabrerizo and García-Fuster, 2016b). Brevemente, las proteínas de las muestras (40-60 μg) se separaron mediante SDS-PAGE en minigeles al 8-12% de poliacrilamida de 15 pocillos (BioRad). Las proteínas ya separadas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa e incubaron en solución bloqueadora con el anticuerpo primario adecuado (anticuerpos policlonales o monoclonales de diversos orígenes comerciales), seguido del correspondiente anticuerpo secundario marcado. La inmunoreactividad se detectó mediante un sistema de detección por amplificación de quimioluminiscencia (Amersham), seguido de la exposición a un film fotográfico (Amersham Hyperfilm ECL) por periodos de 1 a 60 minutos (autoradiogramas). Las bandas inmunoreactivas se cuantificaron por densitometría (unidades de densidad óptica integrada, IOD). Los experimentos se repitieron 3-5 veces en diferentes geles para minimizar la variabilidad entre ensayos. El cambio porcentual de inmunoreactividad de cada grupo respecto a su correspondiente control (100%) se calculó para cada proteína en los diferentes geles y se utilizó el valor medio como la estimación final.



Análisis de los datos:

Todos los datos se analizaron con el programa GraphPad Prism, versión 6.0 y versión 8.0, y los resultados se expresaron como valores medios \pm SD o SEM. Para la evaluación estadística de los datos se utilizaron, entre otros, el test-t y/o ANOVA seguido del test de Bonferroni.

PRINCIPALES RESULTADOS:

Los resultados del **Objetivo 1** muestran que el modelo utilizado (24 h de privación maternal a PND 9), previamente bien caracterizado conductualmente, no parece mostrar grandes efectos en la conducta de ratas macho adolescentes (vulnerabilidad psiquiátrica medida como la conducta pro-depresiva, inmovilidad en el test de natación forzada; la conducta pro-ansiosa, test de campo abierto; la conducta pro-anhedónica, preferencia por sacarosa en el test de dos botellas) a los tiempos analizados. Destacar que el efecto de la separación maternal se ha evaluado durante la adolescencia (entre PND 24 y 32), un período extremadamente plástico durante el cual quizás no somos capaces de ver la afectación conductual. A pesar de no observarse diferencias conductuales en las ratas macho adolescentes expuestas a privación maternal, sí que se encontraron cambios neuroquímicos en marcadores de neurotoxicidad (incremento en marcadores pro-apoptóticos como FADD o citocromo c) en el hipocampo, sugiriendo efectos negativos de la privación maternal. Dada la ausencia de efectos conductuales en ratas macho, se decidió también fenotipar a las ratas hembra, observándose un fenotipo pro-anhedónico (menor consumo de sacarosa) durante la adolescencia. Estos resultados sugieren diferencias de sexo respecto a la vulnerabilidad inducida por este modelo de estrés temprano tanto a nivel conductual como neuroquímico en ratas adolescentes. Estos datos han derivado en un Trabajo de Fin de Máster y varias comunicaciones a congresos. Un resumen de los datos más relevantes se muestra en la **Figura 1**.

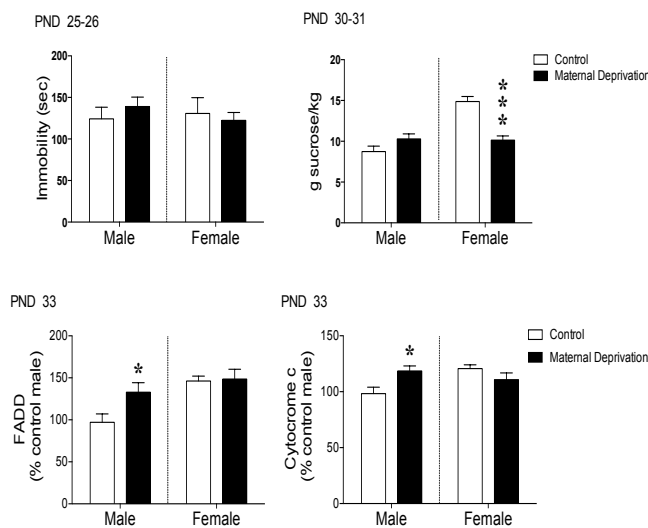


Figura 1. La privación maternal (24 h en PND 9) no indujo un fenotipo pro-depresivo (tiempo inmóvil: test de natación forzada) ni pro-anhedónico (preferencia por 1% sacarosa: test de elección de dos botellas) en ratas macho adolescentes. Sin embargo, sí indujo un fenotipo pro-anhedónico (disminución consumo sacarosa) en ratas hembra adolescentes. La privación maternal indujo cambios neuroquímicos en el hipocampo de ratas macho (incremento FADD y citocromo c), en comparación con la ausencia de efectos en hembras. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs. control.

Se decidió comprobar cómo la privación maternal afectaba a la respuesta afectiva conductual con la edad (rata adolescente vs. adulta) y sexo (ratas macho vs. hembra). En particular, ratas macho expuestas a privación maternal muestran un fenotipo pro-depresivo y pro-anhedónico que es edad dependiente (no se observa en ratas adolescentes, pero sí durante la etapa adulta, a partir de PND 71, **Figura 2**). Sin embargo, ratas hembra expuestas a privación maternal muestran un fenotipo pro-anhedónico en la adolescencia (PND 30-31; **Figura 1**) pero un estado hedónico normal en la etapa adulta (**Figura 2**, y pro-depresivo normal; datos no mostrados), así como un incremento en los niveles de ansiedad (**Figura 2** y véase Jiménez-Romero et al., 2017, 2020 y Bis-Humbert et al., 2017a, 2020). También se han evaluado posibles marcadores neuroquímicos (marcadores de neuroplasticidad) que podrían estar mediando estas diferencias conductuales (entre ratas control y sometidas a privación maternal, y entre los 2 sexos).

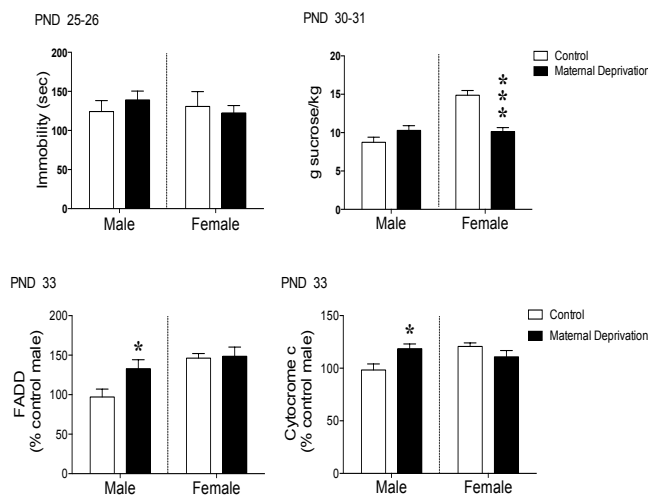


Figura 2. La privación materna (24 h en PND 9) indujo un fenotipo pro-depresivo (tiempo inmóvil: test de natación forzada) y pro-anhedónico (preferencia por 1% sacarosa: test de elección de dos botellas) en ratas macho en función de la edad. En ratas hembra, el fenotipo pro-anhedónico observado en la adolescencia (**Figura 1**) se normalizó en la etapa adulta, donde sí se observó un fenotipo pro-ansioso. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs. control.

Por otro lado, se han estudiado los efectos del tratamiento repetido con cannabidiol en ratas adolescentes a nivel conductual (tests de depresión, ansiedad y anhedonia; parte del **Objetivo 2**). Los principales resultados muestran que el cannabidiol (3 y 10 mg/kg, i.p., 7 días: PND 27-33) es capaz de inducir efectos antidepresivos a la dosis de 10 mg/kg, mediante la disminución del tiempo de inmovilidad y aumento del tiempo de actividad (i.e., 'climbing') en el test de natación forzada en ratas adolescentes (PND 35). Además, este efecto antidepresivo presenta un curso-temporal ya que desaparece a las dos semanas tras el tratamiento (PND 47, **Figura 3**) (Bis-Humbert et al., 2020).

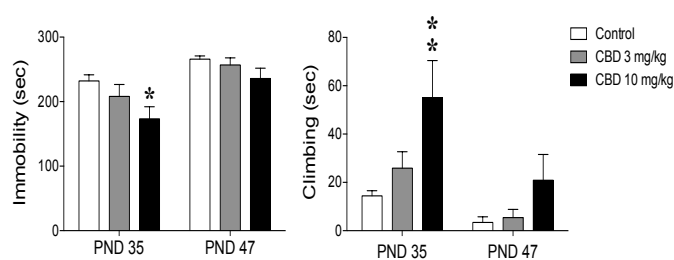


Figura 3. El cannabidiol (CBD: 3 y 10 mg/kg, 7 días, PND 27-33, i.p.) indujo un efecto antidepresivo (disminución tiempo inmovilidad e incremento tiempo actividad en el test de natación forzada) a PND 35 con la dosis de 10 mg/kg. El efecto desaparece cuando se reevalúa a PND 47. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs. control.

Además, se han evaluado diversos marcadores neuroquímicos que podrían estar mediando el efecto antidepresivo observado durante la adolescencia (PND 35). Los resultados muestran que el cannabidiol (3 y 10 mg/kg) no parece inducir cambios en PND 35 en los índices de neurogénesis (proliferación celular basal evaluado con el marcador Ki-67 y supervivencia de neuronas jóvenes evaluado con el marcador NeuroD) en el hipocampo de rata adolescente (**Figura 4**) (véase García-Fuster et al., 2019; Bis-Humbert et al., 2020).

PND 35

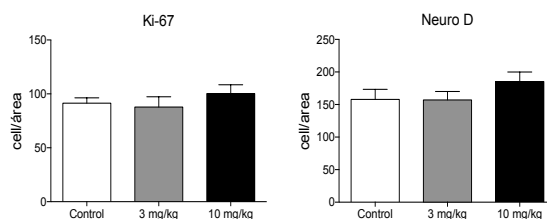


Figura 4. El tratamiento repetido con CBD (3, 10 mg/kg, 7 días, PND 27-33, i.p.) no moduló la neurogénesis hipocámpal durante la adolescencia: índices de proliferación celular (número de células Ki-67+ por área), y de supervivencia de neuronas jóvenes (número de células NeuroD+ por área).

Por otro lado, se han evaluado marcadores de neuroplasticidad (Cdk5, p35 y p25) en el hipocampo de estos animales a PND 35 a nivel proteico (experimentos de Western Blot). Los resultados demuestran un efecto neuroprotector inducido por la administración repetida de cannabidiol (10

mg/kg) observado por un incremento en la expresión proteica de p35 y por una disminución del fragmento neurotóxico p25 (**Figura 5**, Comunicaciones presentadas en jornadas científicas: Bis-Humbert et al., 2018). El cannabidiol no moduló la expresión de la proteína Cdk5 (**Figura 5**). Los efectos observados a PND 35 fueron temporales y no perduraron en el tiempo (no se observan a PND 47; datos no mostrados).

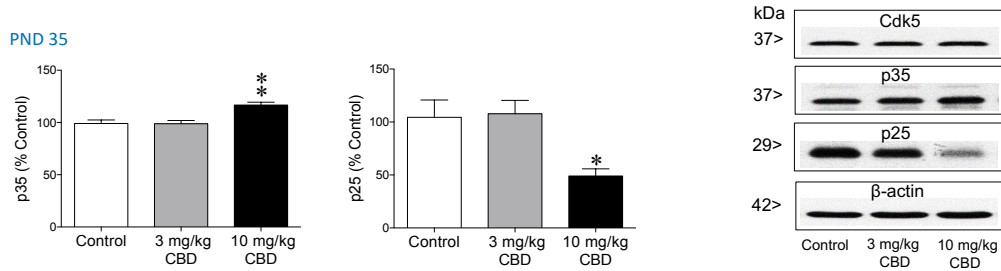


Figura 5. El tratamiento repetido con cannabidiol (CBD: 3, 10 mg/kg, 7 días, PND 27-33, i.p.) indujo efectos neuroprotectores durante la adolescencia (PND 35) medidos como un incremento de la proteína neuroprotectora p35 y una disminución del fragmento neurotóxico p25 con la dosis de 10 mg/kg. Se muestran geles representativos de un experimento. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs. control.

Dado que las dosis evaluadas de cannabidiol (3 y 10 mg/kg) no fueron capaces de inducir cambios en los índices de neurogénesis hipocampal en ratas adolescentes (Figura 4), se realizó otro tratamiento repetido con una dosis más elevada (30 mg/kg, PND 27-33; experimento inicialmente no programado). Los resultados muestran una ausencia de efecto antidepresivo del cannabidiol a esta dosis tanto a PND 35 como PND 47 (**Figura 6**, Bis-Humbert et al., 2020; García-Fuster et al., 2019). Además, 30 mg/kg de cannabidiol no moduló los índices de neurogénesis en el hipocampo de rata adolescente (PND 35, **Figura 6**).

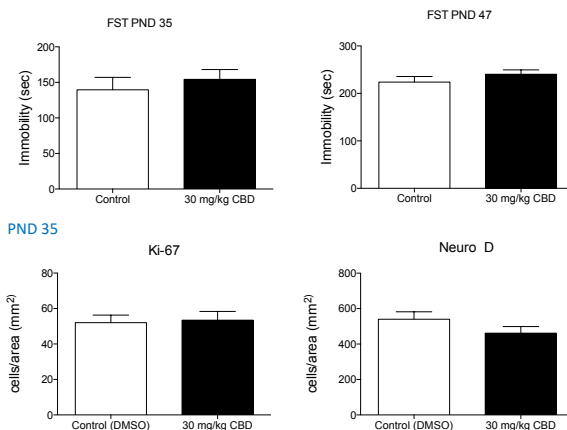


Figura 6. El tratamiento repetido con cannabidiol (CBD: 30 mg/kg, 7 días, PND 27-33) no indujo efectos antidepresivos evaluados en el test de natación forzada como cambios en la inmovilidad durante la adolescencia (PND 35 y PND 47). Además, tampoco indujo cambios en los índices de neurogénesis en el hipocampo durante la adolescencia (PND 35) (número de células Ki-67+ o NeuroD+ por área cuantificada).

A nivel proteico se observó un claro efecto neuroprotector del cannabidiol (dosis de 30 mg/kg) observado por un incremento en la expresión proteica de Cdk5 y de p35 (**Figura 7**). Estos efectos fueron temporales ya que se disiparon a PND 47 (datos no mostrados).

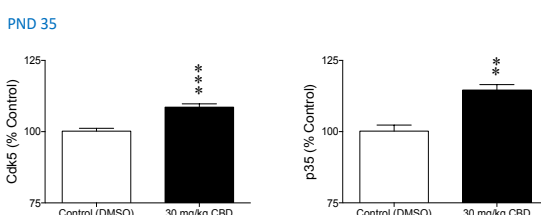


Figura 7. El tratamiento repetido con CBD (30 mg/kg, 7 días, PND 27-33) indujo efectos neuroprotectores durante la adolescencia (a PND 35) medidos como un incremento de p35 y una disminución de p25. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. control.



Por otro lado, se realizó un experimento no programado inicialmente para evaluar si el cannabidiol (10 y 30 mg/kg, 7 días) era capaz de inducir incrementos en los índices de neurogénesis hipocampal en ratas adultas Sprague-Dawley. Los resultados muestran que el cannabidiol no induce cambios en los índices de neurogénesis hipocampal (**Figura 8**) (García-Fuster et al., 2019; 7. Bis-Humbert et al., 2020). Se evaluaron también los marcadores de neuroplasticidad (Cdk5, p35, p25) en el hipocampo de estos animales adultos sin observarse cambios significativos entre los diversos grupos experimentales (datos no mostrados).

PND 149

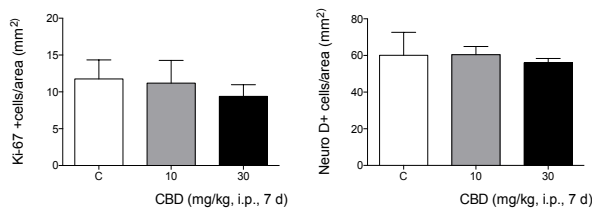


Figura 8. El tratamiento repetido con cannabidiol (CBD: 10 o 30 mg/kg, 7 días) no indujo cambios en los índices de neurogénesis hipocampal durante la etapa adulta. Índices de proliferación celular: número de células Ki-67+ por área; supervivencia de neuronas jóvenes: número de células NeuroD+ por área cuantificada.

El segundo fármaco propuesto en el **Objetivo 2**, la amitriptilina, se sustituyó por su metabolito activo, la nortriptilina. El tratamiento con nortriptilina (3, 10 mg/kg, i.p., 7 días: PND 27-33) indujo efectos antidepresivos (dosis de 3 mg/kg), mediante la disminución del tiempo de inmovilidad y aumento del tiempo de actividad en el test de natación forzada a PND 35 (**Figura 9**). Este efecto antidepresivo desaparece a PND 47 (datos no mostrados; véase Comunicaciones presentadas en congresos: Bis-Humbert et al., 2018). Se están acabando de evaluar los posibles marcadores neuroquímicos (neurogénesis hipocampal, marcadores de neuroplasticidad) que podrían estar mediando los efectos antidepresivos de la nortriptilina.

PND 35

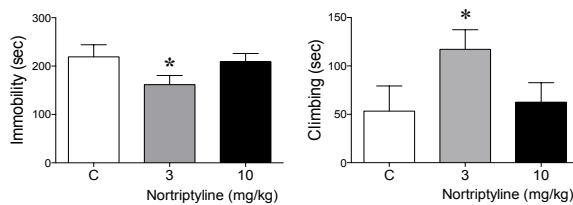


Figura 9. La nortriptilina (3 mg/kg, 7 días, PND 27-33, i.p.) indujo efectos antidepresivos medidos como una disminución en el tiempo de inmovilidad y un incremento en el tiempo de actividad en el test de natación forzada (PND 35). *p<0,05 vs. control (C).

Una vez caracterizado el modelo animal a utilizar y seleccionado el fármaco (cannabidiol a la dosis de 10 mg/kg, 7 días de tratamiento), se realizaron los dos últimos objetivos. En el **Objetivo 3** las ratas fueron expuestas a dos factores de vulnerabilidad (privación maternal y cocaína en la adolescencia). El diseño experimental se modificó ligeramente al inicialmente propuesto para evaluar tanto los efectos inmediatos en la adolescencia como los que pudieran emerger a largo plazo en la etapa adulta (**Figura 10**: fenotipado conductual entre PND 40 y 47 y tras una re-exposición a cocaína en PND 71 y PND 98) (experimentos similares, pero sin separación maternal publicados previamente, García-Cabrerizo y García-Fuster, 2019).

PND 9	10	22	23	24	25	26	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	45	46	47	48
Control vs. MD	Waning	Handle	Handle	FST	FST	Saline (1 ml/kg, i.p., 7 d)	Saline (1 ml/kg, i.p., 7 d)	Cocaine (15 mg/kg, i.p., 7d)	FST test	Remove food	NSF	NSF	Sucrose preference	Cocaine 45 min-FST	Remove food	NSF	Sucrose preference	Cocaine 45 min-FST	Brain:		
3 litters	Control: n=13			pre-test	test	Control-Saline: n=6	Control-Saline: n=6	Control-Cocaine: n=7	test	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight	Weight
3 litters	MD: n=20					MD-Saline: n=9	MD-Saline: n=9	MD-Cocaine: n=11													

Figura 10. Diseño experimental. MD; privación maternal; FST: test de natación forzada; NSF: test de novedad en campo abierto tras supresión de la comida; PND: día post-natal.



Tal y como se ha descrito anteriormente, se observa un efecto pro-depresivo inducido por la privación maternal en el test de natación forzada, donde las ratas MD muestran mayor inmovilidad que las ratas control (**Figura 11**). Además, los resultados demuestran que la administración de cocaína en ratas control durante la adolescencia (PND 33-39) no indujo cambios conductuales inmediatos ni a largo plazo en el test de natación forzada ni en la preferencia a sacarosa (**Figura 11**). Sin embargo, sí indujo incrementos a largo plazo en los niveles de ansiedad experimentados tras re-exposición a cocaína en la etapa adulta (véanse ratas Control en PND 74, **Figura 11**), sugiriendo con datos previos del grupo (véase Producción Científica: 4. García-Cabrerizo y García-Fuster, 2019) que la administración de cocaína durante esta ventana de vulnerabilidad adolescente (PND 33-39) induce efectos conductuales negativos persistentes en el tiempo. Además, al combinar la exposición a privación maternal con la administración de cocaína en la adolescencia, la manifestación del fenotipo pro-ansioso se adelantó a la etapa adolescente (i.e., incremento global observado en la latencia al centro y disminución en el tiempo de ingesta en el Novelty Suppressed Feeding; véanse los efectos en ratas MD a partir de PND 43, **Figura 11**). Por tanto, estos resultados (véase publicación en vías de revisión: Bis-Humbert et al.) sugieren que exponer ratas a dos factores de vulnerabilidad (privación maternal, cocaína en la adolescencia) incrementa la vulnerabilidad a inducir un fenotipo pro-ansioso en la etapa adolescente.

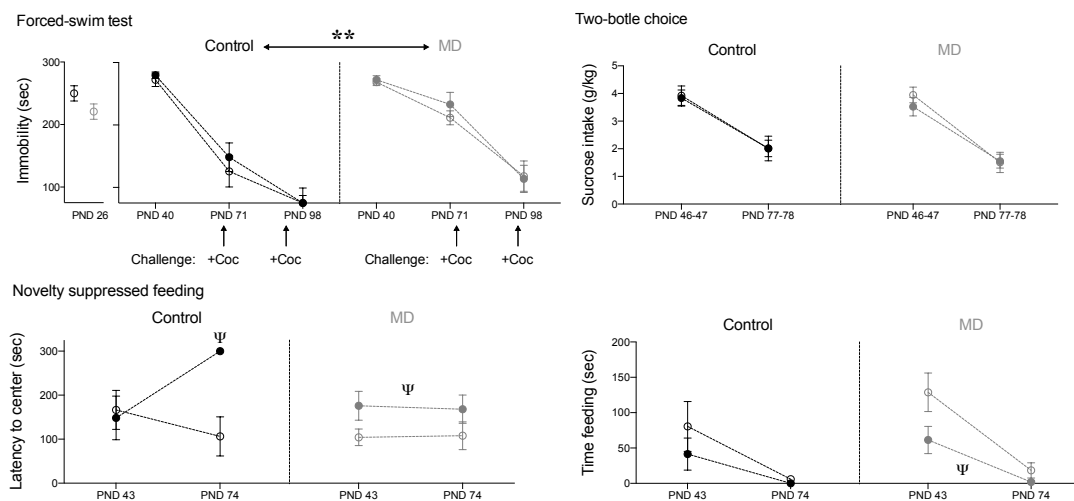


Figura 11. Efectos conductuales inmediatos y a largo plazo inducidos tras la exposición a privación maternal (24 h en PND 9) + cocaína (15 mg/kg, i.p., 7 días, PND 33-39) durante la adolescencia. ** $p < 0,01$ al comparar el efecto del estrés temprano (C vs. MD); $\psi p < 0,05$ al comparar el efecto del tratamiento (salino vs. cocaína en la etapa adolescente).

Por otro lado, se decidió realizar otro experimento, no propuesto inicialmente, para evaluar cómo afectaría que ratas previamente expuestas a privación maternal fueran administradas con cocaína en la etapa adulta, en vez de durante la adolescencia. Para realizar este experimento se siguió el diseño experimental descrito a continuación en la **Figura 12**.

PND	9	10	22	23	24	25	26	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	76	77	78	79	98	99
Control vs. MD			Weaning	Handle	Handle	FST	FST	Saline (1 ml/kg, i.p., 7 d) Cocaine (15 mg/kg, i.p., 7d)								FST	Remove food	NSF			Sucrose preference	Cocaine	Brains	
	2 litters		Control: n=13				Control-Saline: n=6 Control-Cocaine: n=7 MD-Saline: n=10 MD-Cocaine: n=10								Single housed rats									

Figura 12. Diseño experimental. MD; privación maternal; FST: test de natación forzada; NSF: test de novedad en campo abierto tras supresión de la comida; PND: día post-natal.



Los resultados demuestran que la administración de cocaína en la etapa adulta tras privación maternal no induce efectos conductuales negativos (**Figura 13**), y sugiere junto con los datos anteriormente descritos (**Figura 11**), que la administración de cocaína en la etapa adolescente tiene mayor impacto sobre la conducta afectiva que su administración en la etapa adulta (publicación en vías de revisión: Bis-Humbert et al.).

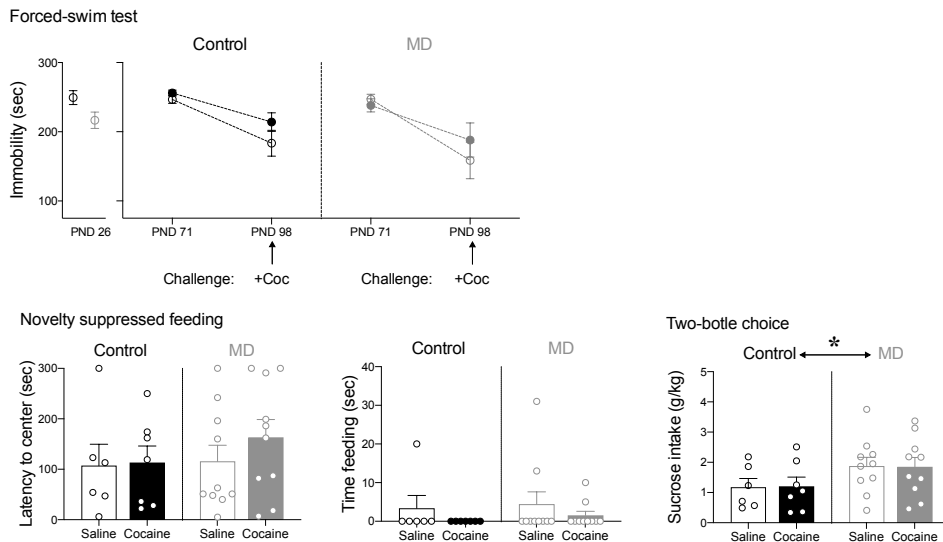


Figura 13. Efectos conductuales inducidos tras la exposición a privación maternal (24 h en PND 9) + cocaína (15 mg/kg, i.p., 7 días, PND 64-70) durante la etapa adulta. * $p < 0,05$ al comprar el efecto del estrés temprano (C vs. MD).

Finalmente, el **Objetivo 4** evaluó el posible efecto protector/beneficial del cannabidiol (pre-tratamiento con 10 mg/kg; PND 33-39) en las consecuencias inducidas por la privación maternal y la administración de cocaína en la adolescencia (véase diseño experimental en Figura 14).

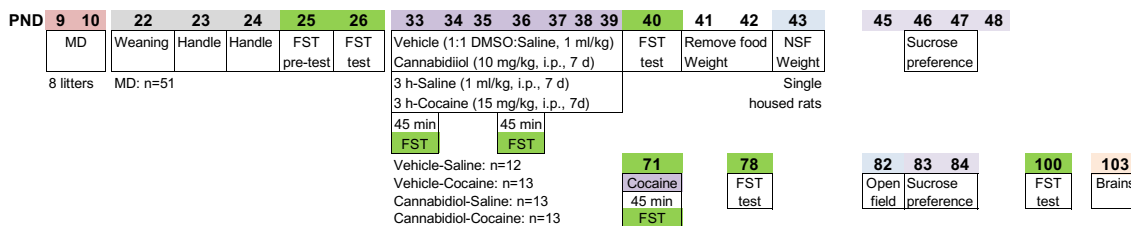


Figura 14. Diseño experimental. MD; privación maternal; FST: test de natación forzada; NSF: test de novedad en campo abierto tras supresión de la comida; PND: día post-natal.

Los resultados principales demuestran que el cannabidiol es capaz de inducir un efecto antidepresivo y pro-hedónico en ratas adolescentes previamente expuestas a privación maternal, pero que este efecto se disipa en la etapa adulta. Sin embargo, cuando la privación maternal se combina con la exposición a cocaína en la etapa adolescente, además del efecto pro-hedónico en la adolescencia, se observa un efecto ansiolítico persistente a largo plazo (**Figura 15**; publicación en vías de revisión: Bis-Humbert et al.).

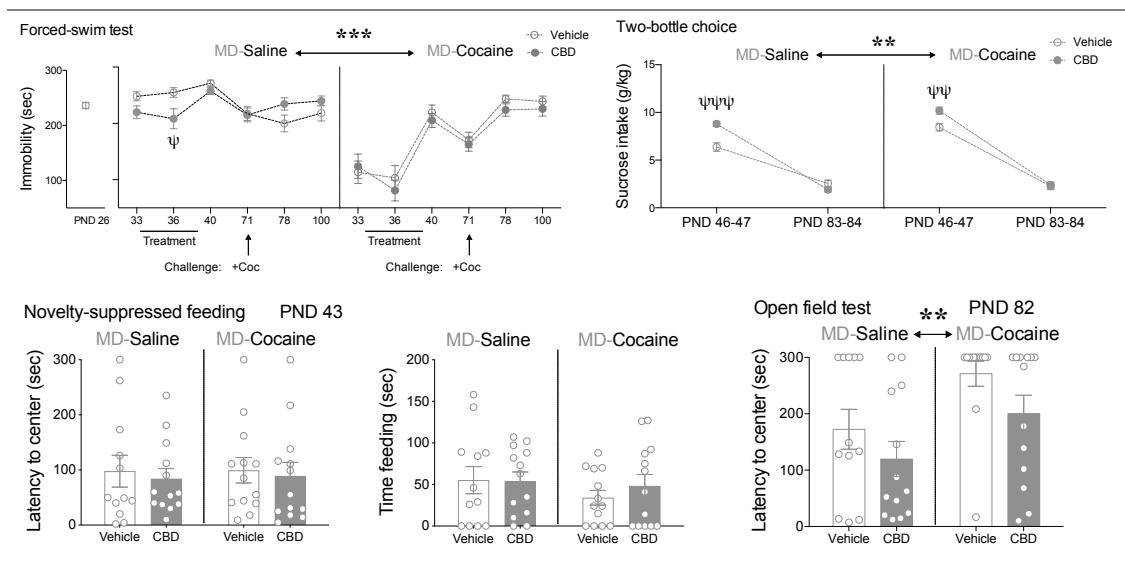


Figura 15. Efectos conductuales inmediatos y a largo plazo inducidos tras la exposición a privación maternal (24 h en PND 9) + cocaína (15 mg/kg, i.p., 7 días, PND 33-39) durante la adolescencia. *** $p < 0,001$ al comparar el efecto del tratamiento (salino vs. cocaína en la etapa adolescente); $\psi\psi\psi p < 0,001$ y $\psi\psi p < 0,01$ al comparar el efecto del pre-tratamiento (vehículo vs. CBD en la etapa adolescente).

DISCUSIÓN:

Las conclusiones principales derivadas de este estudio sugieren que, aunque la privación maternal no indujo cambios conductuales afectivos durante la adolescencia, su impacto negativo emergió durante la etapa adulta (i.e., fenotipo pro-depresivo). De manera similar, la administración de cocaína en la etapa adolescente no indujo cambios conductuales inmediatos durante la adolescencia, pero indujo efectos a largo plazo (i.e., fenotipo pro-ansioso). Sin embargo, cuando la privación maternal a edades tempranas se combinó con la cocaína en la adolescencia, un efecto pro-ansioso emergió en la etapa adolescente, demostrando que la acumulación de estrés puede anticipar la aparición de conductas afectivas negativas y tener peor impacto en los animales, tal y como sugería la hipótesis principal de este proyecto. Finalmente, el cannabidiol demostró poseer un buen potencial terapéutico al mejorar el impacto negativo conductual de ambos factores de vulnerabilidad (privación maternal y cocaína).

APLICABILIDAD E IMPACTO SOCIO-SANITARIO DEL PROYECTO:

Los resultados son muy relevantes desde el punto de vista de políticas de prevención. Existen ciertos factores de riesgo que no podemos evitar, como sería por ejemplo el haber estado expuesto a estrés a edades tempranas o el tener una predisposición previa a sufrir una psicopatología. Esto es importante porque esta predisposición previa nos hace vulnerables al desarrollo de una futura adicción en la etapa adulta. Sin embargo, lo que sí es evitable es el inicio temprano en el consumo de estupefacientes. Por tanto, es de vital importancia detallar la gran relevancia de prevenir y/o evitar el inicio del consumo temprano de drogas de abuso, como la cocaína, durante etapas vulnerables como la adolescencia, ya que, tal y como corroboran datos de este estudio, varios factores de vulnerabilidad combinados (y/o la acumulación de factores de estrés) tienen un impacto mayor a nivel conductual, avanzando los efectos nocivos de manera inmediata a la etapa adolescente. Por otro lado, si la prevención no fuera suficiente para evitar el consumo, este estudio aporta datos esperanzadores de un posible tratamiento farmacológico que mejoraría los efectos conductuales negativos inducidos por la cocaína en una población ya de entrada vulnerable a psicopatologías.



SÍNTESIS DE LOS ASPECTOS MÁS RELEVANTES QUE APORTA EL ESTUDIO:

Los aspectos más relevantes del estudio sugieren que tanto el estrés a edades tempranas como el inicio temprano en el consumo de cocaína de manera independiente impactan de manera negativa a largo plazo el estado conductual afectivo en roedores. Además, al combinarlos, su impacto es mayor, ya que el efecto negativo se observa en estadios más tempranos durante la etapa adolescente. Además, el cannabidiol puede tener cierto potencial terapéutico para proteger esta vulnerabilidad combinada. Los mecanismos neuroquímicos implicados en estos procesos requieren de mayor estudio.

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

No procede.

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS GENERADAS (4):

Los datos obtenidos han producido los siguientes resultados directamente derivados del proyecto (o complementarios y necesarios para algunos de sus diseños experimentales) con mención explícita de financiación del Proyecto 2016/002, Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad):

Artículos publicados en revistas internacionales de revisión por pares:

1. García-Fuster MJ, Parsegian A, Watson SJ, Akil H, Flagel SB: Adolescent cocaine exposure enhances goal-tracking behavior and impairs hippocampal cell genesis selectively in adult bred low-responder rats. *Psychopharmacology*, 234: 1293-1305 (2017).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28210781>
 2. Keller B, Mestre-Pinto J, Álvaro-Bartolomé M, Martínez-Sanvisens D, Farré M, García-Fuster MJ, García-Sevilla JA, Torrens M, and the NEURODEP group: A biomarker to differentiate between primary and cocaine-induced major depression in cocaine use disorder: the role of platelet IRAS/nischarin (I1-imidazoline receptor). *Frontiers in Psychiatry (Section Addictive Disorders)*, 8: 258 (2017).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29326609>
 3. García-Cabrerizo R, Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Methamphetamine binge administration during late adolescence induced hippocampal cell damage following prolonged withdrawal in rats. *NeuroToxicology*, 66: 1-9 (2018).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29501631>
 4. García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Adolescent cocaine exposure enhanced negative affect following drug re-exposure in adult rats: Attenuation of c-fos activation. *Journal of Psychopharmacology*, 33: 154-162 (2019).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30484727>
 5. García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Methamphetamine binge administration dose-dependently enhanced negative affect and voluntary drug consumption in rats following prolonged withdrawal: Role of hippocampal FADD. *Addiction Biology*, 24: 239-250 (2019).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29282816>
 6. Jiménez-Romero F, Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Adolescent morphine induces emotional signs of withdrawal paired with neurotoxicity selectively in male rats: Female resilience. *Neuroscience Letters*, 715: 134625 (2020).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31738950>
-



7. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Decreased sensitivity in adolescent versus adult rats to the antidepressant-like effects of cannabidiol. *Psychopharmacology*, accepted for publication February 7. DOI: 10.1007/s00213-020-05481-4 (2020).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32086540>

8. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Combined impact of early life stress and adolescent or adult cocaine exposure on affective-like behavior and hippocampal FADD in male rats. Submitted for revision to *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, May 15, 2020.

Artículos en vías de preparación:

1. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Effects of cannabidiol on the impact of maternal deprivation early in life followed by adolescent cocaine exposure on affective-like behavior in male rats. In Preparation.

2. Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Nortriptyline regulates different aspects of affective-like behavior in adolescent rats depending on the dose administered. In Preparation.

3. Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Maternal deprivation followed by adolescent cocaine exposure induced persistent effects on negative-affect in female rats. In Preparation.

4. Ledesma-Corvi S, García-Fuster MJ: Antidepressant-like effect of desipramine in male rats: association with the regulation of hippocampal neurogenesis and neuroplasticity markers. In Preparation.

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

Ponencias invitadas:

1. García-Fuster MJ: Vulnerability factors that predispose to cocaine addiction. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 121: Suppl. 2, page 28 (2017). 37th SEF Meeting with guest society: the British Pharmacological Society. 18-21 June, 2017, Barcelona, Spain. Symposium S13 – 1 – Neuropharmacology.

Comunicaciones presentadas en congresos de índole nacional y/o internacional:

1. García-Fuster MJ, Keller B, García-Cabrerizo R: Long-term consequences of treating rats with cocaine at a window of adolescent vulnerability on negative affect in adulthood. 37th SEF Meeting with guest society: the British Pharmacological Society. 18-21 June, 2017, Barcelona, Spain. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 121: Suppl. 2, page 43 (2017).

2. García-Cabrerizo R, García-Sevilla JA, García-Fuster MJ: Repeated electroconvulsive shock increased newly born generated cells and neuroplasticity markers in the rat hippocampus. 37th SEF Meeting with guest society: the British Pharmacological Society. 18-21 June, 2017, Barcelona, Spain. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 121: Suppl. 2, page 35 (2017).

3. Parsegian A, García-Fuster MJ, Watson SJ, Flagel SB, Akil H: Adolescent cocaine experience differentially augments psychomotor sensitization in adulthood and alters epigenetic profiles in the striatum and prefrontal cortex of selectively bred high- and low-responder rats. 2017-S-3270-SfN.



Society for Neuroscience Annual Meeting. Washington DC, November 11-15 (2017).

4. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Effects of maternal deprivation early in life followed by adolescent cocaine exposure on negative affect in rats: Immediate and long-term effects. 31st European College of Neuropsychopharmacology Congress. 6-9 October, Barcelona, Spain (2018).

5. Jiménez-Romero F, Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Immediate and prolonged behavioral effects following chronic morphine administration during adolescence: a study focused on gender-based differences. 31st European College of Neuropsychopharmacology Congress. 6-9 October, Barcelona, Spain (2018).

6. García-Cabrerizo R, Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Methamphetamine administration impedes the expected antidepressant-like effect induced by repeated electroconvulsive shock in adult rats. 2018-S-6771-SfN. Society for Neuroscience Annual Meeting. San Diego, November 3-7 (2018).

7. García-Fuster MJ, García-Cabrerizo R: Pharmacological inhibition of cell proliferation prevents the antidepressant and increased neurogenic effects induced by repeated electroconvulsive shock treatment in rats. 2018-S-6715-SfN. Society for Neuroscience Annual Meeting. San Diego, November 3-7 (2018).

8. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Nortriptyline regulates different aspects of affective-like behaviour in adolescent rats depending on the dose administered. 32nd European College of Neuropsychopharmacology Congress. September 7-10, Copenhagen, Denmark (2019).

9. Ledesma-Corvi S, García-Fuster MJ: Evaluation of the time-course effects exerted by desipramine on behavioural despair and hippocampal neurogenesis in rats. 32nd European College of Neuropsychopharmacology Congress. September 7-10, Copenhagen, Denmark (2019).

10. García-Fuster MJ, García-Cabrerizo R, Bis-Humbert C: Cannabidiol antidepressant-like effects in rats: Decreased sensitivity in adolescent versus adult rats. 39th Spanish Society of Pharmacology (SEF) Meeting. Las Palmas de Gran Canaria, 3-5 July (2019). ORAL COMMUNICATION.

11. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Effects of cannabidiol on the impact of early-life stress followed by adolescent cocaine on negative affect in male rats. 12th FENS Forum of Neuroscience, Glasgow, Scotland (2020).

Comunicaciones presentadas en jornadas científicas:

1. Jiménez-Romero F, Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Effects of maternal deprivation on negative affect in adolescent and adult rats. IV Jornades IdISBa (Instituto de Investigación Sanitaria Islas Baleares). Palma, November 23. Poster 31 (2017).

2. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Effects of exposing rats to maternal deprivation early in life on the negative effects induced by adolescent cocaine. IV Jornades IdISBa (Instituto de Investigación Sanitaria Islas Baleares). Palma, November 23. Poster 29 (2017).

3. Bis-Humbert C, García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ: Cannabidiol induces antidepressant-like effects in adolescent rats: Potential neuroprotective modulators in the hippocampus. V Jornades IdISBa. Palma, November 29. Poster 32 (2018).

4. Bis-Humbert C, García-Fuster MJ: Maternal deprivation followed by adolescent cocaine exposure



induced persistent effects on negative-affect in female rats. VI Jornades IdISBa. Palma, November 28-29. Poster 25 (2019).

5. Ledesma-Corvi S, García-Fuster MJ: Desipramine antidepressant-like effect in rats: association with the regulation of hippocampal neurogenesis and neuroplasticity markers. VI Jornades IdISBa. Palma, November 28-29. Poster 31 (2019).

Tesis Doctorales:

1. Estudiante: Rubén García Cabrerizo. Título de la Tesis: Efectos conductuales inducidos por drogas de abuso psicoestimulantes en ratas a distintas edades durante el desarrollo: Papel de la neurogénesis hipocampal. Programa de Neurociencia ('Mención de Excelencia', MEE2011-0502, ANECA), Facultad de Ciencias, Universidad de las Islas Baleares. Directora y tutora: Dra. M. Julia García Fuster. Fecha de defensa: 15 de marzo de 2019. Summa Cum Laude con Mención Internacional. Premio a la mejor Tesis doctoral VI Jornades IdISBa, Palma, 2019.

2. Estudiante: Cristian Bis Humbert. Título del proyecto de Tesis: Riesgo de vulnerabilidad psiquiátrica en el consumo de cocaína durante la adolescencia: Prevención selectiva mediante tratamiento farmacológico. Programa de Neurociencia ('Mención de Excelencia', MEE2011-0502, ANECA), Facultad de Ciencias, Universidad de las Islas Baleares. Directora y tutora: Dra. M. Julia García Fuster. Fecha prevista de finalización: curso académico 2020-2021.

Trabajo de Fin de Máster:

1. 10605-Trabajo de Fin de Máster en Neurociencias, Universidad de las Islas Baleares. Estudiante: Fernando Jiménez Romero. Título: Efectos de la separación maternal en ratas: diferencias de género en vulnerabilidad psiquiátrica y cambios bioquímicos. Directora y tutora: Dra. M. Julia García Fuster. Fecha de defensa: 7 de julio de 2017.

2. 10605-Trabajo de Fin de Máster en Neurociencias, Universidad de las Islas Baleares. Estudiante: Sandra Ledesma Corvi. Título: Estudio del efecto antidepressivo y neurogénico de la desipramina en rata adulta: Curso temporal. Directora y tutora: Dra. M. Julia García Fuster. Fecha de defensa: 19 de julio de 2019.

PATENTES Y MODELOS DE UTILIDAD (en su caso) :

No.

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

No procede.

AGRADECIMIENTOS:

Se agradece a la Dr. Huda Akil y el Dr. Stan J. Watson de la Universidad de Michigan (Ann Arbor, MI; EE.UU.) el suministro gratuito del anticuerpo Ki-67 (marcador de proliferación celular) para realizar experimentos de neurogénesis hipocampal.

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

j.garcia@uib.es
