

ADICCIONES

ISSN / 0214-4840
E-ISSN / 2604-6334

2025
—
VOL. 37 N.º 4

PUBLICADO POR:

SOCIDROGALCOHOL

Sociedad Científica Española
de Estudios sobre el Alcohol,
el Alcoholismo y las otras Toxicomanías



FINANCIADO POR:



SECRETARÍA DE ESTADO
DE SANIDAD

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO
PARA EL PLAN NACIONAL
SOBRE DROGAS

ADICCIONES

PUBLICADO POR:

SOCIDROGALCOHOL

Sociedad Científica Española
de Estudios sobre el Alcohol,
el Alcoholismo y las otras Toxicomanías



FINANCIADO POR:



SECRETARÍA DE ESTADO
DE SANIDAD
DELEGACIÓN DEL GOBIERNO
PARA EL PLAN NACIONAL
SOBRE DROGAS

EDITOR

José Luis Carballo
Universidad Miguel Hernández de Elche

ASISTENTE TÉCNICO

Andrea López

EDITORES EJECUTIVOS

Maite Cortés
Universidad de Valencia
Sergio Fernández-Artamendi
Universidad de Sevilla
Hugo López Pelayo
Hospital Clínic de Barcelona, España

EDITORES ASOCIADOS

Susana Al-Halabí
Universidad de Oviedo
Francisco Arias
Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid
Albert Espelt
Universidad Autónoma de Barcelona

Eduardo Fonseca
Universidad de La Rioja, CIBERSAM
Leticia García-Alvarez
Universidad de Oviedo, CIBERSAM, Oviedo
Moisés García-Arencibia
Universidad de las Palmas de Gran Canaria

Marta Rodríguez Arias
Universitat de València
Antonio Verdejo
Universidad de Granada
Joan Ramón Villalbí
Agència de Salut Pública de Barcelona

CONSEJO EDITORIAL

Ana Adan Puig
Universidad de Barcelona
Emilio Ambrosio Flores
Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid
Peter Anderson
Public Health Consultant, Hellerup, Dinamarca
Mark Bellis
John Moores University, Liverpool, Reino Unido
Mats Berglund
Lund University, Malmö, Suecia
Ana Bermúdez Barrera
Universidad Santiago de Compostela
Julio Bobes
Universidad de Oviedo – CIBERSAM, ISPA, Oviedo
Colin Brewer
The Staplefor Centre, Londres, Reino Unido
Angel Carracedo
Universidad de Santiago de Compostela
Miguel Casas
Hospital Vall d'Hebron, Barcelona
Cheryl Cherpitel
National Alcohol Research Center, Berkeley, California, Estados Unidos
Mª Isabel Colado
Universidad Complutense, Madrid
Luis de la Fuente
Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Magí Farré
Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona
Joanne Fertig
National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Rockville, Maryland, Estados Unidos
Gerardo Flórez Menéndez
Unidad de Conductas Adictivas, CIBERSAM, Ourense
Norman Giesbrecht
Centre for Addiction and Mental Health, Toronto, Canadá
Mª Paz García-Portilla
Universidad de Oviedo – CIBERSAM, ISPA, Oviedo
Ana González Menéndez
Universidad de Oviedo
Ana González-Pinto
Universidad del País Vasco – CIBERSAM, Alava
Antoni Gual Solé
Instituto de Neurociencias, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona
Consuelo Guerri
Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia
Miguel Gutiérrez
Universidad del País Vasco – CIBERSAM, Alava
William B. Hansen
Tanglewood Research Inc., Greensboro, North Carolina, Estados Unidos
Nick Heather
Norhumbria University, Newcastle Upon Tyne, Reino Unido

Karol L. Kumpfer
University of Utah, Estados Unidos
Ronaldo Laranjeira
Brazilian Society of Addiction, São Paulo, Brasil
Francisco Javier Laso
Universidad de Salamanca
Karl Leukefeld
Multidisciplinary Research Center on Drug and Alcohol Abuse, Lexington, Kentucky, Estados Unidos
Olatz López Fernández
Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED)
Manuel López-Rivadulla
Universidad de Santiago de Compostela
Rafael Maldonado López
Universitat Pompeu Fabra, Barcelona
Una McCann
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, Estados Unidos
Iván Montoya
National Institute on Drug Abuse, Washington, Estados Unidos
Juan Francisco Navas
Universidad Complutense de Madrid
Enrique Ochoa
Hospital Ramón y Cajal, Madrid
Esa Österberg
National Research and Development Centre for Welfare and Health, Helsinki, Finlandia

Moira Plant
University of the West of England, Bristol, Reino Unido
José Antonio Ramos
Universidad Complutense, Madrid
George Ricaurte
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, Estados Unidos
Fernando Rodríguez de Fonseca
IMABIS, Hospital Carlos Haya, Málaga
Jesús Rodríguez Marín
Universidad Miguel Hernández de Elche
Stephen Rollnick
University of Wales, Llanedeyrn, Reino Unido
Pilar Alejandra Sáiz,
Universidad de Oviedo - CIBERSAM, ISPA, Oviedo, España
Luis San
Parc Sanitari Sant Joan de Déu, CIBERSAM, Barcelona
Roberto Secades
Universidad de Oviedo, Oviedo
Kaija Seppä
University of Tampere, Finlandia
Néstor Serman
Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid
Marta Torréns
Hospital de Ntra. Sra. del Mar, Barcelona
Miguel Ángel Torres Fernández
Ex-Presidente de Socidrogalcohol, Valencia
Mª Paz Viveros
Universidad Complutense, Madrid

COMITÉ DE EXPERTOS

Carlos Alonso
Servicio Drogodependencias Castilla La Mancha
Miquel Amengual Munar
Consell de Mallorca, Palma de Mallorca
Belen Arranz
Parc Sanitari S. Joan de Deu, CIBERSAM, Barcelona
Vicent Balanzá
Universitat de València – CIBERSAM, Valencia
María de las Mercedes Balcells-Olivéró
Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona
Gregorio Barrio
Instituto Carlos III, Madrid
Jesús Bedate Villar
Universidad de Valencia
Hilario Blasco
Hospital Universitario Puerta de Hierro, CIBERSAM, Madrid
Mª Teresa Bobes-Bascárán
Universidad de Oviedo, CIBERSAM, ISPA, Oviedo
Fran Calvo
Universitat de Girona
Xavier Castells
Departamento de Ciencias Médicas, Universitat de Girona
Ainhoa Coloma-Carmona
Universidad Miguel Hernández de Elche
Ruth Cunill Clotet
Parc Sanitari Sant Joan de Déu. Sant Boi de Llobregat, Barcelona
Sara Domínguez-Salas
Universidad Loyola Andalucía

Juan José Fernández Miranda
Servicio de Salud Mental del Principado de Asturias, Gijón
Xavier Ferrer Pérez
Fundación Salud y Comunidad, Barcelona.
Francina Fonseca
Institut de Neuropsiquiatría i Addiccions-INAD. Parc de Salut Mar, Barcelona
Dolores Franco
Universidad de Sevilla
Lorena de la Fuente
Universidad de Oviedo, CIBERSAM, ISPA, Oviedo
José Antonio García del Castillo
Universidad Miguel Hernández de Elche
Marina Garriga
Hospital Clínic de Barcelona, CIBERSAM, Barcelona.
José Antonio Giménez Costa
Universitat de València
Lucas Giner
Universidad de Sevilla, Sevilla
Jose Manuel Goikolea
Hospital Clínic, CIBERSAM, Barcelona
Leticia González Blanco
Servicio de Salud del Principado de Asturias, CIBERSAM, ISPA, Oviedo
Alba González de la Roz
Universidad de Oviedo
Josep Guardia Sereigni
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Celso Iglesias
Servicio de Salud Mental del Principado de Asturias, CIBERSAM, ISPA, Oviedo
Montse Juan Jerez
Irefreia, Palma de Mallorca
Miguel Angel Landabaso
Centro de Drogodependencias, Barakaldo, Vizcaya
Carla López Núñez
Universidad de Sevilla
Mª Angeles Lorenzo Lago
Hospital Gil Casares, Santiago de Compostela
Oscar M. Lozano Rojas
Universidad de Huelva
Juan José Llopis Llácer
Unidad de Conductas Adictivas, Castelló
Victor Martínez Loredo
Universidad de Zaragoza
José Martínez-Raga
Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia
Isabel Menéndez-Miranda
Servicio de Salud del Principado de Asturias, ISPA, Oviedo
José Miñarro
Universidad de Valencia
Sonia Moncada
Plan Nacional sobre Drogas, Madrid
Miquel Monrás
Unidad de Alcoholología. Hospital Clínic de Barcelona
Alfonso Palmer Pol
Universitat Illes Balears, Palma de Mallorca

Francisco Pascual Pastor
Conselleria de Sanitat, Valencia
Eduardo J. Pedrero Pérez
CAD 4 Ayuntamiento de Madrid
César Pereiro
Plan de Galicia sobre Drogas. A Coruña
Bartolomé Pérez Gálvez
Hospital Universitario de San Juan, Alicante
Josep-Antoni Ramos-Quiroga
Hospital Vall d'Hebron, Barcelona
Juan Luis Recio
Universidad Complutense, Madrid
Carlos Roncero
Hospital Vall d'Hebron, Barcelona
Teresa Salvador Llívina
C. de Estudios sobre Promoción de la Salud, Madrid
Pedro Seijo
Centro de Tratamiento, Ambulatorio de Adicciones Villamartín, Cádiz
José Ramón Solé Puig
Benito Menni Complejo Asistencial en Salud Mental, Barcelona
Antonio Terán Prieto
Centro Ambulatorio de Atención a Drogodependientes "San Juan de Dios", Palencia
Judit Tirado
IMIM – Hospital del Mar, Barcelona
Joan Trujols i Albet
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

DIRIGIR CORRESPONDENCIA A: SOCIDROGALCOHOL ■ Avda. de Vallcarca, 180 ■ 08023 Barcelona
(+34) 932103854 ■ revistaadicciones@socidrogalcohol.org ■ www.socidrogalcohol.org

ISSN: 0214-4840 ■ **E-ISSN:** 2604-6334 ■ **SVFI:** 89010R ■ **DEP. LEGAL:** V-1543-1989

INDEXADA EN: SOCIAL SCIENCES CITATION INDEX (SSCI-JCR), SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED (SCIE-JCR), EMBASE, SCOPUS, MEDLINE, PSICODOC, PSYCINFO, IBECS, ÍNDICE CSIC, LATINDEX, REDALYC, INDEX COPERNICUS, PROQUEST, DIALNET, GOOGLE SCHOLAR, WEB OF SCIENCE (WOS).

EDITORIAL

Enredados en la adicción

Entangled in addiction

MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS, MARTA TORRENS MELICH 295

ORIGINALES / ORIGINALS

La influencia de los factores de sexo y género en la modulación de la vulnerabilidad a las adicciones: Una revisión narrativa

The influence of sex and gender factors on the modulation of vulnerability to addictions: A narrative review

CRISTINA RIUS, RUT LUCAS-DOMINGUEZ, JUDIT TIRADO-MUÑOZ, LYDIA GARCIA- GOMEZ, LAURA PRIETO-ARENAS, ANTONIO VIDAL-INFER 297

Isoflavonas de soja para el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína: Un estudio piloto abierto

Soy isoflavones for the treatment of cocaine use disorder: An open-label pilot study

ROSER MARTÍNEZ-RIERA, FRANCINA FONSECA, RAFAEL DE LA TORRE, NIEVES PIZARRO, LILIANA GALINDO, JOAN IGNASI MESTRE-PINTÓ, MAGÍ FARRÉ, MARTA TORRENS 311

Bloqueo del incremento en los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por la derrota social: Efecto de la comida palatable

Blocking the increased reinforcing effects of cocaine induced by social defeat: Effects of palatable food

FRANCISCO RÓDENAS-GONZÁLEZ, MARÍA DEL CARMEN BLANCO-GANDÍA, EZEQUIEL MONFERRER, MARÍA PASCUAL, MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS 323

Efectos de los ácidos grasos omega-3 sobre la localización del receptor cannabinoid CB1 en la región CA1 del hipocampo tras la abstinencia de alcohol en ratones machos adolescentes

Effects of omega-3 fatty acids on CB1 cannabinoid receptor localization in the hippocampal

CA1 region following alcohol withdrawal in adolescent male mice

MAITANE SERRANO, LEIRE LEKUNBERRI, GARAZI OCERIN, MIQUEL SAUMELL-ESNAOLA, GONTZAL GARCÍA DEL CAÑO, NAGORE PUENTE, ITZIAR BONILLA-DEL RÍO, INMACULADA GERRIKAGOITIA, PEDRO GRANDES 341

Diferencias sexuales en tareas emocionales y cognitivas en ratas expuestas a atracones de alcohol y en controles durante la adultez temprana

Sex differences in emotional and cognitive tasks in rats exposed to alcohol binges and controls during early adulthood

LETICIA LÓPEZ-VALENCIA, EVA BONILLA, BERTA ESCUDERO, LAURA ORIO 353

El historial previo de estrés modula los cambios transcripcionales inducidos por alcohol en la adolescencia en las vías glutamatérgicas y endocannabinoides del estriado

Prior stress history shapes adolescent alcohol-induced transcriptional changes in striatal glutamatergic and endocannabinoid pathways

LAURA SÁNCHEZ-MARÍN, BERKE CANOLUK, JULIA VERHEUL-CAMPOS, ANA L. GAVITO, RAQUEL REVIRIEGO, FRANCISCO J. PAVÓN-MORÓN, ANTONIA SERRANO, FERNANDO RODRÍGUEZ DE FONSECA 369

Estudio de la ruta neurotrófica Pleiotrofina/PTPRZ en el hipocampo de ratas expuestas a consumo crónico de alcohol y/o deficiencia de tiamina

Study of the Pleiotrophin/PTPRZ neurotrophic pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic alcohol consumption and/or thiamine deficiency

ROSARIO LÓPEZ-RODRÍGUEZ, MARTA MOYA, ESTHER GRAMAGE, GONZALO HERRADÓN, LAURA ORIO 383

Pérdida del control de la ingesta alimentaria y flexibilidad cognitiva: Participación de la microbiota intestinal

Loss of eating control and cognitive flexibility: Involvement of gut microbiota

SOLVEIGA SAMULÉNAITÉ, AURELIJUS BUROKAS, JOSÉ MANUEL FERNÁNDEZ-REAL, JORDI MAYNERIS-PERXACHS, ELENA MARTÍN-GARCÍA, RAFAEL MALDONADO 395



ADICCIONES



BOLETÍN DE SUSCRIPCIÓN

■ DATOS PERSONALES:

Nombre y apellidos
NIF Profesión
Dirección N° Piso
Tel. Población C.P. Provincia
E-mail

■ SUSCRÍBANME A: ADICCIONES. AÑO 2025

España	4 ejemplares y suplementos	50,00 €	suscripción particular suscripción instituciones	
	4 ejemplares "	130,00 €		
	1 ejemplar	15,00 €		
	1 monográfico	20 €		
Extranjero	4 ejemplares y suplementos	90 €	90 \$	suscripción particular suscripción instituciones
	4 ejemplares "	200 €	200 \$	
	1 ejemplar	19 €	19 \$	

Las suscripciones se entenderán por los cuatro ejemplares del año natural en que se realice la suscripción, sea cual sea el momento del año en que ésta se efectúe.

■ PAGARÉ:

- A) **Por domiciliación bancaria** (rellenar para ello la orden de pago que está a continuación y enviarnos el original por correo).
- B) Mediante cheque nº que adjunto a nombre de «Adicciones».
- C) Transferencia bancaria a BANCO SABADELL ATLÁNTICO - Ag. Ganduxer, Vía Augusta, 246 - Barcelona
IBAN: ES81 0081 0653 7300 0116 0017
(Es importante que en la orden de transferencia conste claramente el ordenante de la transferencia para poderla identificar adecuadamente).

..... de de 20

(Firma)

ORDEN DE PAGO POR DOMICILIACION BANCARIA

Nombre del titular de la cuenta

Nombre del Banco o Caja de Ahorros

Número Cuenta Corriente o Libreta (ATENCIÓN: DEBE CONSTAR DE 20 DÍGITOS):

Entidad Oficina D.C. N°

Dirección Banco o C.A.:

Calle o Pza.

Código Postal Población Provincia

Ruego a Vds. Se sirvan tomar nota de que, hasta nuevo aviso, deberán adedudar en mi cuenta los efectos que les sean presentados para su cobro por "Adicciones, Socidrogalcohol"

..... de de 20

Atentamente (firma del titular)



EDITORIAL

Enredados en la adicción

Entangled in addiction

MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS*; MARTA TORRENS MELICH**.

* Unidad de investigación Psicobiología de las Drogodependencias, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de Valencia.

** Institut de Neuropsiquiatría i Addiccions, Parc de Salut Mar y Programa de Neurociencias, Grupo Investigación en Adicciones, Instituto de Investigación Hospital del Mar, Barcelona, España.
Faculty of Medicine and life Sciences (MELIS), Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España.

La adicción es una enfermedad muy compleja que requiere un abordaje multidisciplinar. Hace más de 20 años investigadores del ámbito de las adicciones, pero con diferentes perfiles de trabajo, comenzamos a generar una red de trabajo conjunto que consiguió ser financiada desde el principio por el Instituto de Salud Carlos III. Este proyecto sigue financiado y trabajando conjuntamente en la actualidad.

La RIAPAd o Red de Investigación en Atención Primaria de las Adicciones (anteriormente RTA o Red de Trastornos Adictivos) se encuentra formada en su última edición, por 19 grupos de investigación distribuidos por 10 comunidades autónomas de España. Entre ellos destacan numerosos grupos clínicos y básicos, pero también grupos dedicados a la prevención o la epidemiología. La Red está viva y aunque algunos grupos nos mantenemos desde el principio, otros se han fusionado o abandonado la red y muchos grupos se han ido incorporado a lo largo de los años.

Desde este abordaje multidisciplinar, el objetivo de la RIAPAd es mejorar la salud y el bienestar de las personas y las familias afectadas por las adicciones. Desde cada uno de nuestros ámbitos de trabajo, todos los grupos aportamos a este objetivo general.

Este volumen especial de la Revista Adicciones, sirve como escaparate de algunos de los trabajos que realizamos en la RIAPAD. Nos hemos centrado especialmente en los estudios de carácter básico o preclínico porque queremos presentar los aspectos menos conocidos de la investigación que realizamos. Uno de los grandes logros de la red ha sido la capacidad de enredarnos y potenciar nuestras investigaciones gracias al trabajo colaborativo. La mayoría de los grupos preclínicos desarrollamos numerosas colaboraciones entre nosotros, pero no nos quedamos aquí sino que la Red también nos permite las colaboraciones entre grupos básicos, clínicos y focalizados en la prevención. La traslación de los resultados de la investigación básica a los especialistas que desde distintas perspectivas trabajan en adicciones a los usuarios y a la sociedad en general, es una de las tareas esenciales que nos hemos propuesto conseguir en la RIAPAD.

En este volumen los artículos presentados se centran en los principales objetivos que persigue la red. El artículo presentado por el grupo del Dr Fernando Rodríguez de Fonseca explora el sorprendente papel protector que la exposición a un estresor durante la adolescencia puede ejercer al modificar los correlatos neurobiológicos del consumo de alcohol (*Prior stress history shapes adolescent alcohol-induced*

■ Enviar correspondencia a:

Marta Rodríguez-Arias.

E-mail: marta.rodriguez@uv.es Facultad de Psicología, Universitat de Valencia, Avda. Blasco Ibáñez, 21, 46010 Valencia, España.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

transcriptional changes in striatal glutamatergic and endocannabinoid pathways). El importante papel de la microbiota en el control de la ingesta y el control cognitivo es desarrollado por el grupo del Dr Rafael Maldonado (*Loss of eating control and cognitive flexibility: Involvement of gut microbiota*). Estos dos estudios se pueden integrar en el objetivo de prevenir y preparar a la población frente a las adicciones.

Otro de los objetivos de la RIAPAD es el seguimiento de la evolución de los trastornos adictivos que se explora en el artículo colaborativo de los grupos de la Dra. Laura Orio y del Dr. Gonzalo Herradon que estudia la neurotrófica Pleiotrofina/PTPRZ en el hipocampo de ratas expuestas a consumo crónico de alcohol y/o deficiencia de tiamina (*Study of the Pleiotrophin/PTPRZ neurotrophic pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic alcohol consumption and/or thiamine deficiency*).

Numerosos grupos estamos trabajando en el desarrollo de nuevos tratamientos para para la adicción. El grupo de la Dra. Marta Torrens presenta un ensayo clínico preliminar en el que se evalúa el papel de las isoflavonas para el tratamiento de la cocaína (*Soy isoflavones for the treatment of cocaine use disorder: an open-label pilot study*). También se ha tratado de abordar el tratamiento al consumo de cocaína inducido por el estrés mediante el consumo de pequeñas cantidades de dieta alta en grasa en el estudio del grupo de la Dra. Marta Rodríguez-Arias (*Blocking the increased reinforcing effects of cocaine induced by social defeat: effects of palatable food*). Finalmente, el papel de los ácidos grasos omega 3 en los cambios que el consumo de alcohol en atracción induce en el sistema endocannabinoide ha sido el objetivo del trabajo presentado por el grupo de la Dra. Inmaculada Gerrickagoitia (*Omega-3 fatty acids mitigate long-lasting disruption of the endocannabinoid system in the adult mouse hippocampus following adolescent binge drinking*)

Uno de los intereses más importantes de la RIAPAd, coincidiendo la Agencia Europea de las Drogas, es la Investigación con perspectiva de género. Y por ello, no podían faltar en este volumen especial dos artículos sobre este aspecto tan importante en la adicción. Una revisión realizada en colaboración por los grupos a los que pertenecen el Dr Antonio Vidal y la Dra. Judit Tirado se centra en la vulnerabilidad a la adicción desde una perspectiva de género (*The influence of sex and gender factors on the modulation of vulnerability to addictions: a narrative review*). Finalmente, el grupo de la Dra. Orio evalúa como los atracones de alcohol pueden afectar a las funciones cognitiva y la respuesta emocional dependiendo de sexo de los animales (*Sex differences in emotional and cognitive tasks in adolescent rats exposed to alcohol binges and controls*).

Esperamos que este volumen sirva para que todos los potenciales lectores de la revista conozcan nuestra red y especialmente, conozcan de primera mano los estudios preclínicos que se están realizando. La traslación a la práctica clínica es muchas veces infructuosa y somos conscientes de

los difícil que es obtener los mismos resultados en nuestros laboratorios y en la asistencia clínica. Quizás con más dificultad cuando se trata de una enfermedad con tantas facetas como es la adicción. Sin embargo, la investigación preclínica, aunque falle en numerosas ocasiones, cuando descubre una nueva diana terapéutica, un factor protector o un biomarcador genera un nuevo camino de esperanza y bienestar para los enfermos. Este volumen también es un intento de muchos investigadores básicos de abrir a sus colegas clínicos, epidemiólogos o preventivistas pequeñas ventanas de lo que podemos aportar a su trabajo

Os esperamos en la RIAPAD <https://riapad.es/>



ORIGINAL

La influencia de los factores de sexo y género en la modulación de la vulnerabilidad a las adicciones: Una revisión narrativa

The influence of sex and gender factors on the modulation of vulnerability to addictions: A narrative review

CRISTINA RIUS*, **; RUT LUCAS-DOMINGUEZ*, **; JUDIT TIRADO-MUÑOZ***, ****; LYDIA GARCIA- GOMEZ**;
LAURA PRIETO-ARENAS*****; ANTONIO VIDAL-INFER*, **, *****.

*Departamento de Historia de la Ciencia y Documentación, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia, España.

**UISYS, Unidad Mixta de Investigación, Universidad de Valencia, Valencia, España. Unidad Asociada al Instituto de Investigación en Educación Superior y Ciencia (INAECU) UC3M-UAM, España.

***Departamento de Psicología, Facultad de Ciencias Biomédicas y de la Salud, Universidad Europea de Madrid, Madrid, España.

****Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), España.

*****Unidad de Salud Mental, Hospital General Obispo Polanco de Teruel, España.

Resumen

En este trabajo se ha realizado una revisión narrativa que identifica los factores asociados al sexo y al género que influyen en la vulnerabilidad frente al desarrollo de un trastorno adictivo. Las adicciones surgen de la interacción entre factores neurobiológicos y psicosociales. Los dimorfismos cerebrales según el sexo, mediados por factores genéticos, hormonales y epigenéticos, generan diferencias en los circuitos implicados en la recompensa, la regulación emocional y las funciones ejecutivas. Las diferencias farmacocinéticas, como mayores niveles sanguíneos de alcohol, metabolismo más rápido de la nicotina y una internalización más lenta de los receptores μ -opioides en mujeres, contribuyen a una progresión más rápida y a la aparición más temprana de complicaciones médicas. El género, entendido como un sistema de roles y normas socialmente construidos, modula estas vulnerabilidades. Las normas masculinas tradicionales se asocian a mayor consumo, mientras que algunos aspectos de la feminidad pueden actuar como factores de riesgo o protección. Las minorías sexuales y de género presentan las mayores disparidades. Las mujeres lesbianas y bisexuales tienen las tasas más elevadas de trastornos por uso de sustancias; los hombres gays y bisexuales informan mayor consumo de drogas ilícitas; las personas bisexuales muestran el mayor riesgo global. Las poblaciones trans y no binarias presentan prevalencias más altas de consumo de tabaco, estimulantes y sustancias asociadas al chemsex, muchas veces como respuesta al estrés de minoría y a sistemas de salud cisnortativos. La comorbilidad psiquiátrica afecta al 50–80 % de los casos. Abordar estas desigualdades requiere un enfoque interseccional, sensible al género y culturalmente competente.

Palabras clave: vulnerabilidad, diferencias según el sexo, normas de género, trastorno por consumo de sustancias, patología dual, minorías sexuales y de género

Abstract

This narrative review identifies the sex- and gender-related factors that influence individual vulnerability to developing addictive disorders. Addiction arises from the complex interaction between neurobiological and psychosocial factors. Sex-based brain dimorphisms, shaped by genetic, hormonal, and epigenetic influences, lead to differences in neural circuits involved in reward, emotional regulation, and executive functioning. Pharmacokinetic differences, such as higher blood alcohol levels, faster nicotine metabolism, and slower μ -opioid receptor internalization in women, contribute to earlier medical complications and faster addiction progression. Gender, understood as a system of socially constructed roles and expectations, further modulates these vulnerabilities. Traditional masculine norms are associated with higher substance use, while certain aspects of femininity may increase risk (e.g., emotional repression or partner dependence) or serve as protective factors through help-seeking behavior. Sexual and gender minorities experience the most significant disparities. Lesbian and bisexual women show the highest rates of substance use disorders; gay and bisexual men report greater illicit drug use; and bisexual individuals consistently display the highest overall risk. Transgender and non-binary populations exhibit increased prevalence of tobacco, stimulant, and chemsex-related substance use, often as a response to minority stress and exclusion from cisnormative care systems. Psychiatric comorbidity affects 50–80% of cases. Women show higher rates of anxiety, trauma histories, and adverse clinical outcomes. Many face “triple stigma” due to their gender, mental health condition, and substance use. Addressing these disparities requires an intersectional, gender-informed, and culturally competent approach to prevention, diagnosis, and treatment.

Keywords: vulnerability, sex differences, gender norms, substance-use disorder, dual diagnosis, sexual and gender minorities

■ Recibido: Mayo 2025; Aceptado: Septiembre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Antonio Vidal Infer. Department of History of Science and Information Science, School of Medicine and Dentistry, University of Valencia.
Avda. Blasco Ibañez, 15, 46010. Valencia (Spain). Email: Antonio.Vidal-Infer@uv.es

La adicción es un fenómeno complejo influenciado por factores biológicos, psicológicos y sociales. En este contexto, la vulnerabilidad emerge como un concepto clave para explicar por qué algunas personas desarrollan dependencia patológica mientras que otras no, incluso con patrones similares. Esta transición está mediada por características individuales como la impulsividad, la búsqueda de sensaciones o la presencia de trastornos afectivos y de ansiedad. Estos rasgos pueden predisponer a las personas a usar sustancias como medio para regular emociones negativas, afrontar el estrés o satisfacer necesidades psicológicas no cubiertas. El sexo biológico y el género socialmente construido moldean profundamente las respuestas del cerebro y del cuerpo a los estímulos adictivos. Incorporar estas dimensiones en la investigación es por tanto esencial para identificar con precisión los factores de riesgo y elaborar estrategias de prevención y tratamiento realmente efectivas. Basado en una búsqueda dirigida de la literatura científica de las dos últimas décadas en Web of Science y Scopus, este artículo delimita los principales determinantes de vulnerabilidad relacionados con el sexo/género, abarcando desde factores biológicos y sociales hasta cuestiones específicas como abuso, trauma, poblaciones de género no conforme y trastornos concurrentes (diagnóstico dual).

Modulación de la vulnerabilidad a las adicciones por sexo y género desde una perspectiva biológica

La literatura científica ha mostrado dimorfismos sexuales en el sistema nervioso (SN) que pueden influir en la vulnerabilidad a las adicciones. Específicamente, diferencias genéticas, epigenéticas y hormonales durante el desarrollo y la organización cerebral conducen a variaciones en los circuitos neuronales implicados en el procesamiento de recompensas, la emoción y las funciones ejecutivas en hombres y mujeres (McHugh et al., 2018), desencadenando respuestas divergentes a las mismas sustancias de abuso. A nivel neuroanatómico y funcional, los estudios de neuroimagen en personas con trastorno por consumo de sustancias (TUS) revelan alteraciones en regiones como el estriado —particularmente el núcleo accumbens (NAc), que integra placer y motivación—, la amígdala (asocia estímulos con recompensa o castigo), el hipocampo (memoria contextual de experiencias gratificantes), la ínsula (regula el craving) y el cuerpo calloso (conecta los hemisferios cerebrales e integra funciones cognitivas y emocionales). Estas alteraciones difieren entre los sexos, aunque se necesita más investigación para precisarlas (Cornish y Prasad, 2021; Rando et al., 2013), y también varían según la sustancia consumida. En el trastorno por consumo de alcohol (TCA), los hombres muestran reducciones de volumen en estas áreas respecto a controles sanos, mientras que las mujeres con el mismo trastorno presentan volúmenes aumentados (Sawyer et al.,

2017; Sawyer et al., 2018; Zahr et al., 2020). Estudios sobre consumo intenso de alcohol en adolescencia y adultez temprana revelan igualmente diferencias específicas por sexo en regiones prefrontal, estriatal y medial-temporal: las mujeres jóvenes consumidoras muestran volúmenes mayores que las mujeres sanas, mientras que los hombres presentan el patrón opuesto con pérdida de volumen (Kvamme et al., 2016; Morris et al., 2019; Pfefferbaum et al., 2016). De manera similar, Nie et al. (2021) hallaron que los hombres consumidores crónicos de metanfetamina en situación de abstinencia tenían hipocampos más pequeños que los hombres sanos, mientras que en mujeres no se observaron tales efectos estructurales. Por el contrario, se detectaron reducciones significativas de materia gris en mujeres con adicción a estimulantes, como la cocaína y/o las anfetaminas, tras abstinencia prolongada, pero no en hombres (Regner et al., 2015). Estos hallazgos sugieren adaptaciones neuroplásticas específicas por sexo, que pueden explicar las distintas manifestaciones clínicas de la adicción (Cornish y Prasad, 2021).

Respecto a las diferencias neuroquímicas en la recompensa, destaca el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, siendo el área tegmental ventral (ATV) la principal fuente de neuronas dopaminérgicas. La liberación de dopamina (DA) en el núcleo accumbens es central para la recompensa; las drogas inhiben su recaptación funcionando como un refuerzo artificial. Estudios en humanos y roedores muestran que hombres y mujeres activan los circuitos dopaminérgicos de recompensa de forma diferente, no solo en magnitud sino también neuroanatómicamente, con respuestas distintas en el núcleo accumbens ventral frente al estriado dorsal (Copenhaver y LeGates, 2024; Cosgrove et al., 2014; Gillies et al., 2014). Este patrón neural podría explicar la diferencia por sexo en la escalada del consumo que conduce a la adicción. Cosgrove et al. (2014) demostraron que los hombres activan más intensamente el estriado ventral al fumar, en consonancia con el refuerzo del cigarrillo, mientras que las mujeres fuman más para regular emociones y la reactividad de la señal. Estudios de imágenes TEP mostraron que los hombres presentan una respuesta dopaminérgica rápida y consistente en el estriado ventral, mientras que las mujeres responden más rápidamente en el estriado dorsal (putamen). En la adicción a la cocaína, las mujeres tienden a progresar más rápido hacia un uso habitual, en parte debido a una menor liberación de dopamina en el estriado ventral, lo que favorece un mayor consumo para obtener efectos similares. Una mayor actividad dopaminérgica en el estriado dorsolateral podría facilitar en las mujeres la transición hacia un uso compulsivo (Becker y Chartoff, 2019).

En cuanto a los efectos del sexo sobre el sistema endocrino y cómo esto influye en la vulnerabilidad, existe abundante literatura que examina cómo el estradiol interactúa con el circuito de recompensa mesolímbico incrementando la vulnerabilidad de las mujeres a la adicción. Las hormonas sexuales, estrógenos, progesterona y andrógenos, mo-

dulan fuertemente el cerebro y la conducta, incluidas las respuestas de recompensa. El estradiol potencia el refuerzo inducido por drogas al aumentar la liberación de dopamina en vías mesolímbicas y estriada. En consecuencia, las ratas hembra muestran conductas más intensas de búsqueda de droga cuando los niveles de estradiol son altos (proestro/estro, análogo al periodo folicular tardío/ovulación en mujeres) (Becker, 2016). Las fluctuaciones hormonales a lo largo del ciclo estral/menstrual pueden alterar tanto la velocidad de adquisición de la adicción como la intensidad del refuerzo de la droga (Kokane y Perrotti, 2020; Sardari et al., 2024). El estradiol incrementa las propiedades gratificantes y de refuerzo tras el consumo de opioides, cocaína y anfetaminas, afectando así la vulnerabilidad (Kokane y Perrotti, 2020). Por contra, la progesterona suele contrarrestar el estradiol. En mujeres que consumen cocaína, los niveles altos de progesterona y derivados como la alopregnanolona (por ejemplo, durante la fase lútea o durante el tratamiento con determinados anticonceptivos) se asocian con menor craving y consumo (Peart et al., 2022). Estos hallazgos han impulsado la investigación de análogos de progesterona como posibles tratamientos para reducir recaídas en mujeres consumidoras de psicoestimulantes: la progesterona ha mostrado eficacia disminuyendo el craving y la activación emocional en mujeres, pero no en hombres (Fox et al., 2013).

La modulación hormonal se extiende al metabolismo de drogas. Los estrógenos y progestágenos explican en parte que se detecten niveles plasmáticos más altos de cocaína en mujeres que en hombres ante dosis equivalentes (Peart et al., 2022). A la inversa, las mujeres metabolizan la nicotina más rápidamente, en especial quienes usan anticonceptivos orales (Allen et al., 2019; Berlin et al., 2007). Estas variaciones farmacocinéticas contribuyen a diferencias de vulnerabilidad a la adicción (Thibaut, 2018). Las mujeres también alcanzan concentraciones de alcohol en sangre más altas que los hombres, ante un consumo equivalentes debido a, menor masa corporal magra y menor actividad de alcohol-deshidrogenasa gástrica (Komáreková et al., 2013). En consecuencia, pueden sufrir daño hepático y cardíaco inducido por alcohol, consumiendo alcohol a dosis inferiores y durante períodos más breves, un efecto denominado “clínico telescopio” (McHugh et al., 2018). Muchas complicaciones médicas de la adicción, como la neuropatía, deterioro cognitivo relacionado con alcohol, miocardiopatía, cirrosis y trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias, aparecen antes y con menor exposición acumulada en mujeres (Trillo et al., 2012). Respecto a los opioides, las mujeres presentan una menor activación del receptor μ y una eliminación más lenta ante el consumo de morfina, por lo que a menudo requieren de dosis mayores y las hace más propensas a la hiperalgesia y a desarrollar más rápidamente tolerancia, pudiendo necesitar dosis más altas para alcanzar una analgesia equivalente (Fullerton et al., 2018).

En los hombres, existe un perfil hormonal más estable dominado por andrógenos, y su influencia en la conducta adictiva ha sido menos estudiada que la de estrógenos y progesterona. La testosterona y sus derivados pueden modular la transmisión dopamínérgica y glutamatérgica, y algunos estudios vinculan niveles altos de andrógenos con una mayor propensión al riesgo y a la búsqueda de sensaciones, lo que facilita el inicio del consumo. Sin embargo, los efectos directos de la testosterona sobre las drogas con propiedades reforzadoras parecen más sutiles que el impacto del estradiol en mujeres (Bawor et al., 2015). En el trastorno por consumo de opioides, cualquier ingesta de opioides reduce o suprime marcadamente la testosterona en los hombres, pero no en las mujeres (Bawor et al., 2015), subrayando la regulación específica por sexo del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal y sus hormonas GnRH, LH y FSH (Katz y Mazer, 2009). Los cambios resultantes en estado de ánimo, capacidad de reacción ante el estrés, agresividad y libido pueden desencadenar respuestas marcadamente diferentes entre hombres y mujeres consumidoras de opioides (Börjesson et al., 2011; Fullerton et al., 2018; Smith y Elliott, 2012).

Comprender los determinantes biológicos de la vulnerabilidad a la adicción puede ser muy útil para desarrollar programas psicoeducativos e intervenciones orientadas a la prevención y el tratamiento. Aunque los factores biológicos ayudan a explicar parte de las diferencias en vulnerabilidad a la adicción, una comprensión completa de por qué determinadas personas inician y mantienen el consumo de sustancias solo es posible cuando también se consideran los determinantes psicosociales.

Sexo, género y expectativas sociales

En las últimas décadas, la investigación sobre el trastorno por consumo de sustancias ha avanzado hacia una perspectiva más holística que, además de los determinantes biológicos, también considera factores psicológicos y sociales para comprender la vulnerabilidad a la adicción. Dentro de este marco, el sexo y el género emergen como categorías analíticas esenciales para explicar las diferencias observadas en las tendencias epidemiológicas, los patrones de consumo, las presentaciones clínicas y el acceso al tratamiento (Becker y Koob, 2016; Fonseca et al., 2021; Greenfield et al., 2010). Las diferencias de sexo se refieren a características biológicas determinadas genéticamente, mientras que el género se refiere a los roles, normas, expectativas y comportamientos socialmente construidos asociados con hombres, mujeres y personas no binarias (Kaufman et al., 2023; World Health Organization, 2011). Estas normas están profundamente arraigadas en las estructuras sociales y han evolucionado con el tiempo. En el ámbito de la adicción, las expectativas de género desempeñan un papel crucial en la vulnerabilidad al consumo de sustancias y en el desarrollo del trastorno por consumo de alcohol, influ-

yendo tanto en la decisión de consumir como en el acceso al tratamiento.

Según la Organización Mundial de la Salud (2011), las normas de género afectan no solo las experiencias emocionales y sociales de las personas, sino también su salud mental y física. Las presiones sociales vinculadas a los roles de género pueden llevar, por tanto, a que hombres y mujeres experimenten de manera distinta la exposición a sustancias, la progresión del consumo y las respuestas al tratamiento (Harris et al., 2022). Históricamente, el consumo de sustancias ha sido más prevalente entre los hombres, lo que ha llevado a que los servicios de adicción, la investigación y las políticas se centren en los hombres o sean “de género neutro”, dejando sin abordar las necesidades específicas de las mujeres y de otras identidades de género (Fonseca et al., 2021; Harris et al., 2022; Meyer et al., 2019; Torrens-Mèlich et al., 2021). La literatura científica indica que la brecha de género en los TUS se está centrando para ciertas sustancias y grupos de edad, una tendencia alarmante cuando los entornos psicosociales y clínicos no reconocen ni atienden adecuadamente necesidades diferenciadas.

Más allá de las vulnerabilidades biológicas descritas en la sección anterior, las expectativas sociales basadas en el género moldean los comportamientos de consumo. Las dinámicas sociales, especialmente las relaciones interpersonales y el contexto comunitario, influyen fuertemente en los patrones de consumo de los hombres y las mujeres, ya que las normas tradicionales asignan roles específicos a cada género. Los hombres suelen vincularse a roles de protección y provisión dentro de la familia, se caracterizan por la competitividad, la confianza y la persistencia; las mujeres, se asocian al rol reproductivo, de cuidado y apoyo emocional, con rasgos como dedicación, expresividad y empatía (Sánchez-López, 2013; Sánchez-López y Limiñana-Gras, 2017). Sin embargo, la conformidad con estas normas varía según factores contextuales e individuales, produciendo distintos grados de adherencia o resistencia (Sánchez-López et al., 2014).

La feminidad y la masculinidad desempeñan, por tanto, un papel significativo en la vulnerabilidad a la adicción. La feminidad engloba los rasgos, comportamientos y roles culturalmente definidos como propios de las mujeres, moldeando expectativas sobre cómo deben pensar, sentir y actuar (Mahalik et al., 2005). En las sociedades occidentales, la feminidad normativa idealiza, entre otras cualidades, el cuidado, la expresividad emocional y la preocupación por la apariencia (Levant et al., 2007; Mahalik et al., 2005). La adhesión varía entre grupos raciales y culturales: por ejemplo, la cultura latina valora la subordinación y el auto-sacrificio; el estereotipo de la “mujer negra fuerte” enfatiza la resiliencia; la hiperfeminidad asiática valora la docilidad y la confiabilidad (Castillo et al., 2010; Donovan y West, 2014). Estas normas moldean el comportamiento y pueden generar riesgos diferenciales para el consumo de sustancias (Kulis et al., 2008); comprender la vulnerabilidad exige,

por tanto, un enfoque interseccional que integre género, etnia y expectativas culturales.

Una revisión sistemática reciente mostró que la feminidad influye significativamente en las variaciones dentro del grupo de mujeres en el consumo de sustancias: el 74% de los estudios ($n = 17$) encontró que la adhesión a normas femeninas explicaba una parte única de la varianza en el consumo (Brady et al., 2016). Aunque tradicionalmente el consumo de sustancias se ha vinculado a la masculinidad (Van Gundy et al., 2005), investigaciones recientes también relacionan normas femeninas con el consumo (Iwamoto et al., 2016). Practicar comportamientos estereotípicamente masculinos, como el consumo de alcohol, puede asociarse en muchas mujeres con empoderamiento, placer y aprobación de pares (Lyons y Willott, 2008). Mientras que la feminidad a menudo promueve conductas de búsqueda de salud (por ejemplo, pedir ayuda) (Shakya et al., 2019), algunos rasgos actualmente pueden aumentar el riesgo (Kaya et al., 2016). Examinar cómo la feminidad moldea el consumo es esencial, ya que las mujeres frecuentemente consumen sustancias para manejar el malestar emocional (Dragan, 2015) y son vulnerables al estrés de rol de género; suelen recurrir al consumo de sustancias para afrontar el dolor emocional o físico y se automedican para solventar problemas de salud mental, frecuentemente como respuesta a experiencias traumáticas (National Institute on Drug Abuse, 2020; Stone et al., 2021). Además, las mujeres presentan mayor riesgo que los hombres a ser introducidas en el consumo de drogas por sus parejas, lo que sugiere un patrón de iniciación moldeado por relaciones íntimas y codependencia (Mburu et al., 2019). La adherencia rígida a normas femeninas puede generar insatisfacción, devaluación y vergüenza, aumentando la probabilidad de uso de sustancias como estrategia para afrontar determinadas situaciones (Efthim et al., 2011; Hoffman, 2001). Por otro lado, una fuerte identificación con la feminidad tradicional puede disuadir a algunas mujeres, ya que el consumo de sustancias entra en conflicto con el comportamiento considerado “adecuado” (Iwamoto et al., 2018).

La investigación sobre consumo de sustancias a menudo se centra en cómo la feminidad o las identidades minoritarias (por ejemplo, mujeres y personas LGBTQ+) moldean la vulnerabilidad, mientras que la influencia de las normas de masculinidad permanece poco explorada. Sin embargo, muchos hombres consumen sustancias para alinearse con ideales de dureza, suprimir emociones o responder a presiones sociales vinculadas a la masculinidad hegemónica (Klingemann y Klingemann, 2023). Pasar por alto esta perspectiva, limita la comprensión del consumo de sustancias entre los hombres. Integrar los roles de género en las intervenciones puede mejorar tanto su eficacia como su relevancia contextual.

Los factores y expectativas sociales también pueden actuar como elementos protectores. Las mujeres están generalmente menos expuestas que los hombres a entornos

sociales centrados en drogas o alcohol y tienden a formar relaciones estrechas y de apoyo, que fomentan la resiliencia psicológica (McHugh et al., 2018). Las responsabilidades de cuidado, que a veces se convierten en barreras, pueden también ser un elemento motivador hacia la búsqueda de tratamiento, especialmente los esfuerzos por mantener o recuperar la custodia de los hijos (Greenfield et al., 2007; Sword et al., 2009).

Finalmente, el estigma es un factor clave que moldea profundamente las experiencias y los resultados, especialmente para las mujeres. Las mujeres con adicciones enfrentan un estigma dual: por su dependencia y por violar normas de género como el autocontrol y la responsabilidad (Howard, 2015). Este estigma puede llevar a ocultar o a retrasar la búsqueda de ayuda.

En cuanto a las personas cuya orientación sexual es no normativa (gais, lesbianas y bisexuales), estudios recientes indican que el riesgo de consumo de sustancias está determinado por la identidad sexual más que por el sexo. Las mujeres lesbianas y bisexuales presentan tasas elevadas de trastornos relacionados con alcohol y drogas, mientras que los hombres gay y bisexuales son más propensos a consumir drogas ilícitas y a enfrentar problemas relacionados (Green y Feinstein, 2012). Estas disparidades parecen estar moldeadas por factores socioculturales, como la pertenencia a la cultura gay o el estatus serológico frente al VIH, y no se ven mitigadas por características demográficas como el sexo femenino o la mayor edad (Green y Feinstein, 2012). De hecho, la orientación bisexual se vincula habitualmente con un mayor riesgo de consumo: las mujeres bisexuales presentan más formas de consumo que las mujeres lesbianas o gais, así ningún aspecto en el consumo de sustancias presenta menor riesgo para personas bisexuales (Schuler y Collins, 2020; Schuler et al., 2018).

En cuanto a las personas de género no conforme (que no se ajusta a los estereotipos de género), los determinantes son algo más complejos y se explicarán en la siguiente sección.

Vulnerabilidad en personas de género no conforme

Entre las personas de género no conforme, es decir, individuos cuya identidad de género difiere de su sexo asignado al nacer, las cuestiones de sexo y género se vuelven fundamentales e incluso definitorias a la hora de abordar la vulnerabilidad a la adicción. Estudios recientes muestran que las personas transgénero y no binarias (TNB) presentan tasas de prevalencia más altas de consumo de alcohol, tabaco, cannabis y psicoestimulantes, así como una mayor implicación en prácticas de chemsex, que sus pares cisgénero (Cotaina et al., 2022; Scheim et al., 2017). Por ejemplo, Scheim et al. (2017) estimaron en una muestra canadiense que el 12% de las personas TNB habían consumido al menos una droga de alto riesgo en el año anterior, particularmente co-

caína y anfetaminas, siendo ésta una proporción superior a la de la población general. Del mismo modo, un metaanálisis reciente determinó que identificarse como TNB aproximadamente duplicaba las probabilidades de consumo de tabaco y drogas en comparación con individuos cisgénero, aunque no se encontraron diferencias significativas en el consumo de alcohol (Cotaina et al., 2022). Además, el análisis de miles de historiales médicos en EE. UU. reveló tasas más altas de diagnósticos de abuso de nicotina, alcohol y drogas en pacientes TNB que en pacientes cis (Kidd et al., 2023). En conjunto, estos datos subrayan que las personas TNB soportan una carga desproporcionada de consumo problemático de sustancias en relación con la población cisgénero, lo que las hace más vulnerables.

La investigación se ha centrado a menudo en mujeres transgénero (aquellas asignadas como hombres al nacer), confirmando una alta prevalencia de consumo de metanfetamina y cocaína cuando se encuentran en el contexto de vulnerabilidad social (Reback y Fletcher, 2014). En mujeres transgénero que ejercen el trabajo sexual, muchas reportaron consumo reciente de metanfetamina u otros estimulantes para prolongar y potenciar los encuentros sexuales (Santos et al., 2014). Siguiendo el tema de las sustancias utilizadas con fines sexuales, el chemsex es especialmente relevante entre personas TNB y revela diferencias incluso dentro de este grupo; los datos clínicos muestran tasas de consumo de estimulantes hasta diez veces más altas en mujeres transgénero que en hombres transgénero (Gómez-Gil et al., 2012). Sin embargo, un estudio estadounidense reciente de Kidd et al. (2023) concluyó que no existían diferencias significativas entre hombres y mujeres transgénero en cuanto al consumo problemático de sustancias.

¿Por qué es mayor esta vulnerabilidad? Varios estudios indican que el consumo de sustancias entre personas TNB funciona a menudo como estrategia para afrontar al estrés crónico derivado de la discriminación, el rechazo y el trauma (Hendricks y Testa, 2012). Las personas TNB afrontan con frecuencia estigma y prejuicio en el ámbito familiar, escolar, laboral y sanitario, así como violencia transfóbica a lo largo de la vida, todo ello contribuye a vivir experiencias de exclusión social de manera sostenida y a un estrés crónico. La evidencia empírica muestra que las personas transgénero que reportan mayores niveles de discriminación también presentan tasas significativamente elevadas de consumo reciente de sustancias y de trastornos por consumo a lo largo de la vida, destacando el impacto acumulativo de la exposición crónica al estigma y la exclusión (Wolfe et al., 2021). Ante la inseguridad, el estrés emocional y la percepción de falta de apoyo, el consumo de sustancias puede surgir como una automedicación (Bockting et al., 2013; Kidd et al., 2023). Por ejemplo, las mujeres transgénero con antecedentes de trauma sexual o violencia presentan una probabilidad significativamente mayor de consumir drogas como la cocaína para sobrellevar el dolor psicológico (Budhwani

et al., 2017). Del mismo modo, en un estudio estadounidense con 600 personas transgénero adultas, que habían experimentado discriminación transfóbica, mostraron tasas mucho más altas de consumo reciente de sustancias, de padecer trastornos por el consumo de sustancias a lo largo de sus vidas así como mayor probabilidad de haber necesitado tratamiento (Wolfe et al., 2021). Estos hallazgos confirman que la exposición continua al rechazo y la violencia aumenta el riesgo de recurrir a sustancias psicoactivas para manejar el estrés y el malestar emocional (Hughto et al., 2021; Klein y Washington, 2024).

Otro determinante potencialmente decisivo de la vulnerabilidad TNB es el entorno sanitario. Vivir en un sistema de atención cisnORMATIVO, significa que los servicios de salud mental y adicciones se construyeron bajo la premisa de que ser cisgénero es la norma, y que ser trans fue históricamente clasificado como un trastorno. En consecuencia, las intervenciones fueron diseñadas solo para hombres o mujeres cisgénero y, aún en la actualidad, muchos programas carecen de protocolos afirmativos para personas TNB; solo unos pocos están específicamente orientados a la población LGBTIQ+ (Williams y Fish, 2020). Un resultado directo de este enfoque binario es la falta de visibilidad de la comunidad no binaria: las personas no binarias muestran peor salud mental, que las personas trans binarias, presumiblemente debido al estrés añadido de ser no valoradas o ignoradas por el sistema sanitario, y, por tanto, estas personas reportan mayor ansiedad, depresión y conductas de riesgo que sus pares binarios (Klein y Washington, 2024; Reisner y Hughto, 2019; Thorne et al., 2019). Además, las personas no binarias han sido excluidas de muchos estudios sobre consumo de sustancias (Connolly y Gilchrist, 2020), reforzando aún más su invisibilidad. Un estudio cualitativo en Argentina destacó que la falta de formación en salud trans entre profesionales, es uno de los principales obstáculos para una atención adecuada (Cordero y Saletti-Cuesta, 2025). Asimismo, un estudio reciente de Jessani et al. (2024) señaló la preparación insuficiente de los equipos sanitarios para reconocer y abordar las necesidades de personas transgénero y de género diverso, especialmente fuera de los grandes centros urbanos. Ante este déficit formativo, el personal especialista reclama mayor formación en competencia cultural y modelos de prácticas de discriminación positiva para mejorar la calidad asistencial y reducir los sesgos vinculados al infradiagnóstico y al infratratamiento (Hughto et al., 2015; Korpaïsarn y Safer, 2018), ya que la discriminación repetida, se asocia con mayor malestar psicológico, riesgo de depresión y abuso de sustancias, factores que alejan a muchas personas TNB de los servicios de atención regularizados y les conducen a la automedicación y al autocuidado como estrategias de supervivencia (Johnson et al., 2019; Schechner et al., 2025).

Todos estos factores que intensifican la vulnerabilidad de las personas TNB a la adicción implican que las inter-

venciones deben ser adaptables a esta población y estar atentas a sus necesidades específicas.

Sexo, género y diagnóstico dual

La comorbilidad psiquiátrica entre individuos con trastornos por consumo de sustancias es notablemente alta, con estimaciones de prevalencia que oscilan entre el 50% y el 80%, dependiendo de la población estudiada (Andersson et al., 2023; Díaz-Fernández et al., 2023; Fernández-Miranda et al., 2024; Szerman et al., 2022). La presencia simultánea de un TUS y otro trastorno mental se denomina diagnóstico dual (DD) (Fernández-Artamendi et al., 2024; Szerman et al., 2022). La explicación con mayor respaldo científico es que ambas condiciones comparten bases neurobiológicas comunes y factores de riesgo genético, mientras que las sustancias tóxicas consumidas alteran muchos sistemas de neurotransmisión implicados en la patogénesis de estos otros trastornos mentales (Szerman et al., 2022). Determinar el diagnóstico primario en los casos de DD suele ser complejo. La mayoría de los estudios se han centrado en vincular el consumo de sustancias con el desarrollo de trastornos psiquiátricos; muchos menos examinan la relación inversa, y aún menos incorporan una perspectiva de género.

Los escasos estudios que sí consideran el sexo y el género como variables indican que los trastornos de ansiedad y los trastornos afectivos son más prevalentes entre las mujeres con DD (Díaz-Fernández et al., 2023; Szerman et al., 2015). La ansiedad es un factor de riesgo significativo para el consumo de sustancias, especialmente alcohol y cannabis (Prieto-Arenas et al., 2022). Por ejemplo, un estudio sobre ansiedad social encontró una asociación más fuerte entre esta condición y los problemas relacionados con el alcohol en mujeres que en hombres (Buckner et al., 2023). Del mismo modo, el trastorno de pánico se ha vinculado a un mayor riesgo de desarrollar dependencia del alcohol, siendo este riesgo aproximadamente el doble en mujeres que en hombres (Chang et al., 2020). También se han identificado diferencias de género en los patrones de comorbilidad psiquiátrica y en el uso de los servicios de salud, antes del inicio de la dependencia del alcohol. Entre los jóvenes, se ha descrito el consumo de cannabis como una estrategia para afrontar la ansiedad y la baja tolerancia al malestar (Morris et al., 2024). La baja tolerancia al malestar se asocia significativamente con mayor consumo de cannabis y sus complicaciones relacionadas. Aunque las mujeres tienden a reportar un consumo global menor, su uso se motiva más frecuentemente por el manejo de síntomas psiquiátricos (Arranz et al., 2020; Leadbeater et al., 2019).

Las disparidades de género también son evidentes en la comorbilidad entre trastornos psicóticos y TUS. Pacientes con esquizofrenia afrontan un riesgo tres veces superior de desarrollar trastorno por consumo de cannabis que la población general (Kozak et al., 2021). Aunque las mujeres

con esquizofrenia muestran una menor prevalencia de consumo de sustancias (Gómez-Sánchez-Lafuente et al., 2022; Novick et al., 2016), el abuso de sustancias parece tener efectos más perjudiciales a largo plazo para ellas (Casanovas et al., 2023; van der Meer et al., 2015). Las mujeres con esquizofrenia y trastorno por consumo de cannabis suelen experimentar síntomas más severos, mayor número de hospitalizaciones y peores resultados de tratamiento (Miquel et al., 2013), y es menos probable que reduzcan el consumo de cannabis con el tiempo, empeorando así el progreso de su enfermedad (Calakos et al., 2017; Casanova et al., 2023).

La concurrencia de un trastorno psiquiátrico y un TUS está relacionado con síntomas clínicos más graves y a una mayor disfunción psicosocial respecto a la observada habitualmente en individuos con un solo trastorno (Andersson et al., 2023; Mangrum et al., 2006), y esto es especialmente pronunciado en mujeres con diagnóstico dual. Estas mujeres se enfrentan a múltiples vulnerabilidades interconectadas que complican tanto la atención clínica como la social. La literatura muestra que, en comparación con los hombres con diagnósticos similares, ellas están desproporcionadamente más afectadas por presentar otros antecedentes como el trauma, la violencia de género y el abuso, lo que incrementa tanto el riesgo de recaída como la no adherencia y, por tanto, peores resultados de salud (Fonseca et al., 2021; Meyer et al., 2019; Tirado-Muñoz, 2018; Torrens-Mèlich et al., 2021). Además, la interacción entre los síntomas psiquiátricos y el consumo de sustancias dificulta determinar el diagnóstico correcto y contribuye a una mayor probabilidad de exclusión social, desempleo, estigmatización y un acceso más limitado a los servicios integrales sensibles al género (McHugh et al., 2018).

Las mujeres con DD también sufren un triple estigma: por ser mujeres, por tener un trastorno mental y por presentar un TUS. Este estigma compuesto puede fomentar la vergüenza, la culpa y el aislamiento, disminuyendo la probabilidad de buscar o la adherencia al tratamiento (Calderón Calvo, 2021). Muchas de estas mujeres también carecen de redes de apoyo social y familiar sólidas, elementos clave en su recuperación. Tanto el estigma que han internalizado como el social, no solo refuerzan estereotipos y prejuicios negativos, sino que afectan directamente la forma en que estas mujeres acceden, utilizan y se benefician de los servicios de salud (McCartin et al., 2022).

A pesar de que el reducido número de estudios centrados en el género dificulta el análisis de las diferencias sexuales en el diagnóstico dual, la falta de datos sobre orientación sexual e identidad de género, plantea un desafío aún mayor para comprender las disparidades y diseñar intervenciones adaptadas a las poblaciones LGBTIQ+ (Flentje et al., 2015). En este sentido, el 56% de jóvenes LGBTIQ+ presentaban algún parámetro clasificado como criterio para ser identificados como población con al menos un trastorno de salud mental, o bien que había consumido sustancias en el últi-

mo año, en comparación con el 29% de sus pares cis-heterosexuales (Kingsbury y Findlay, 2024). Este grupo no solo muestra tasas desproporcionadamente superiores de consumo de sustancias y TUS, sino que también es más susceptible a problemas graves de salud mental, como niveles más altos de ansiedad, depresión, ideación suicida y mayor exposición al trauma y al trastorno de estrés posttraumático (Marchi et al., 2023). Este colectivo también presenta una mayor vulnerabilidad a infecciones como VIH y VHC, especialmente en el contexto de conductas de alto riesgo relacionadas con el chemsex. Factores estructurales e interpersonales, como la discriminación, la estigmatización, el acoso y la homofobia internalizada, agravan la angustia psicológica y actúan como barreras importantes para recibir una atención adecuada (Kidd et al., 2019; Marchi et al., 2024; Silveri et al., 2022).

Por lo tanto, las personas transgénero y de género diverso presentan una mayor vulnerabilidad a los trastornos por consumo de sustancias, debido a factores estructurales, como las políticas públicas excluyentes, las limitaciones en el acceso a servicios sanitarios inclusivos y las normas sociales estigmatizantes (Poteat et al., 2023). Recientemente encontramos marcos legislativos dirigidos específicamente a jóvenes LGBTIQ+, con mayor riesgo de bajo rendimiento académico, suicidio y discriminación. Las políticas que restringen el acceso a una atención sanitaria con enfoque de género positiva, crean dilemas éticos para el personal profesional al limitar su capacidad de proporcionar tratamientos seguros y basados en la evidencia (Kline et al., 2023). Estos determinantes estructurales dificultan significativamente la prevención y el tratamiento efectivo del uso indebido de sustancias dentro de las poblaciones LGBTIQ+ (Phillips et al., 2025).

Conclusiones

La evidencia sintetizada en esta revisión indica que los constructos de género, como la feminidad, la masculinidad o las identidades no binarias, moldean e influyen en la vulnerabilidad neurobiológica, psicológica y social a los trastornos por consumo de sustancias y sus frecuentes comorbilidades psiquiátricas (DD). La adhesión estricta a roles normativos incrementa las conductas de riesgo, mientras que la incongruencia entre la identidad vivida y las expectativas sociales impulsan el estrés, la exposición al trauma y sobrellevar la situación de forma inadecuada mediante el consumo de sustancias. Estos hallazgos exigen estrategias de prevención y tratamiento que tengan en cuenta explícitamente la identidad de género, la expresión de género y los determinantes interseccionales como clase, raza y orientación sexual. Solo desmantelando las suposiciones binarias y cismormativas en el diseño de la investigación, los criterios empleados para diagnosticar y la prestación de los servicios, pueden generarse intervenciones culturalmente informadas que apun-

ten a los mecanismos que vinculan los estresores de género con las vías y las tendencias de la adicción.

Conflictos de intereses

Todos los autores declaran que no tienen conflictos de interés.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por las ayudas: PND2024-I037 y PND2024-I092 financiadas por el Plan Nacional Sobre Drogas (Ministerio de Sanidad); RD24/0003/0004 y RD24/0003/0001 financiadas por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciadas por la Unión Europea; y la Cátedra Género y Salud de la Universidad de Valencia.

Referencias

- Allen, A. M., Weinberger, A. H., Wetherill, R. R., Howe, C. L. y McKee, S. A. (2019). Oral contraceptives and cigarette smoking: A review of the literature and future directions. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 21(5), 592-601. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntx258>
- Andersson, H. W., Mosti, M. P. y Nordfjaern, T. (2023). Inpatients in substance use treatment with co-occurring psychiatric disorders: A prospective cohort study of characteristics and relapse predictors. *BMC psychiatry*, 23(1), 152. <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04632-z>
- Arranz, S., Mané, A., Bergé, D., Monserrat, C., Cabezas, A., Vilella, E. y Sanchez- Gistau, V. (2020). The impact of sex and cannabis on clinical features in first- admitted patients with psychosis. *European neuropsychopharmacology: The journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 36, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.03.003>
- Bawor, M., Bami, H., Dennis, B. B., Plater, C., Worster, A., Varenbut, M., Daiter, J., Marsh, D. C., Steiner, M., Anglin, R., Coote, M., Pare, G., Thabane, L. y Samaan, Z. (2015). Testosterone suppression in opioid users: A systematic review and meta-analysis. *Drug and Alcohol Dependence*, 149, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.01.038>
- Becker, J. B. (2016). Sex differences in addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18(4), 395-402. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.4/jbecker>
- Becker, J. B. y Chartoff, E. (2019). Sex differences in neural mechanisms mediating reward and addiction. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 44(1), 166-183. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0125-6>
- Becker, J. B. y Koob, G. F. (2016). Sex differences in animal models: Focus on addiction. *Pharmacological Reviews*, 68(2), 242–263. <https://doi.org/10.1124/pr.115.011163>
- Berlin, I., Gasior, M. J. y Moolchan, E. T. (2007). Sex-based and hormonal contraception effects on the metabolism of nicotine among adolescent tobacco-dependent smokers. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 9(4), 493-498. <https://doi.org/10.1080/1462200701243193>
- Bockting, W. O., Miner, M. H., Swinburne Romine, R. E., Hamilton, A. y Coleman, E. (2013). Stigma, mental health, and resilience in an online sample of the US transgender population. *American Journal of Public Health*, 103(5), 943–951. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2013.301241>
- Börjesson, G., Mårtensson, A., Holmer, H. I. y Westerling, D. (2011). F633 Low testosterone levels in men with long-term opioid treatment. *European Journal of Pain Supplements*, 5(S1), 178-178. [https://doi.org/10.1016/S1754-3207\(11\)70613-7](https://doi.org/10.1016/S1754-3207(11)70613-7)
- Brady, J., Iwamoto, D. K., Grivel, M., Kaya, A. y Clinton, L. (2016). A systematic review of the salient role of feminine norms on substance use among women. *Addictive Behaviors*, 62, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2016.06.005>
- Buckner, J. D., Morris, P. E., Ferrie, M. L. y Scherzer, C. R. (2023). Social anxiety and alcohol use and related problems among black adults: Differential roles of motives by sex. *Substance Use & Misuse*, 58(1), 36–43. <https://doi.org/10.1080/10826084.2022.2137813>
- Budhwani, H., Hearld, K. R., Milner, A. N., Charow, R., McGlaughlin, E. M., Rodriguez-Lauzurique, M., Rosario, S. y Paulino-Ramirez, R. (2017). Transgender women's experiences with stigma, trauma, and attempted suicide in the Dominican Republic. *Suicide and Life-Threatening Behavior*, 48(6), 788–796. <https://doi.org/10.1111/sltb.12400>
- Calakos, K. C., Bhatt, S., Foster, D. W. y Cosgrove, K. P. (2017). Mechanisms Underlying Sex Differences in Cannabis Use. *Current addiction reports*, 4(4), 439–453. <https://doi.org/10.1007/s40429-017-0174-7>
- Calderón Calvo, C. (2021). El estigma en personas con patología dual como barrera de acceso y adherencia a recursos asistenciales. *Norte de Salud Mental*, 17(65), 34-47.
- Casanovas, F., Fonseca, F. y Mané, A. (2023). Substance use specificities in women with psychosis: A critical review. *Current neuropharmacology*, 21(9), 1953–1963. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666221129113942>
- Castillo, L. G., Perez, F. V., Castillo, R. y Ghosh, M. R. (2010). Construction and initial validation of the Marianismo Beliefs Scale. *Counselling Psychology Quarterly*, 23(2), 163–175. <https://doi.org/10.1080/09515071003776036>
- Chang, H. M., Pan, C. H., Chen, P. H., Chen, Y. L., Tai, M. H., Su, S. S., Tsai, S. Y., Chen, C. C. y Kuo, C. J. (2020). Sex differences in incidence and psychiatric comorbidity for alcohol dependence in patients with panic

- disorder. *Drug and alcohol dependence*, 207, 107814. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2019.107814>
- Connolly, D. y Gilchrist, G. (2020). Prevalence and correlates of substance use among transgender adults: A systematic review. *Addictive Behaviors*, 111, 106544. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2020.106544>
- Copenhaver, A. E. y LeGates, T. A. (2024). Sex-specific mechanisms underlie long-term potentiation at Hippocampus. Medium spiny neuron synapses in the medial shell of the nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 44(27), e0100242024. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0100-24.2024>
- Cordero, M. L. y Saletti-Cuesta, L. (2025). Barreras y estrategias para la accesibilidad a la salud de las personas trans en Córdoba, Argentina. *Salud Colectiva*, 21, e5200. <https://doi.org/10.18294/sc.2025.5200>
- Cornish, J. L. y Prasad, A. A. (2021). Sex differences in substance use disorders: A neurobiological perspective. *Frontiers in Global Women's Health*, 2, 778514. <https://doi.org/10.3389/fgwh.2021.778514>
- Cosgrove, K. P., Wang, S., Kim, S.-J., McGovern, E., Nabolisi, N., Gao, H., Labaree, D., Tagare, H. D., Sullivan, J. M. y Morris, E. D. (2014). Sex differences in the brain's dopamine signature of cigarette smoking. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(50), 16851-16855. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3661-14.2014>
- Cotaina, M., Peraire, M., Boscá, M., Echeverría, I., Benito, A. y Haro, G. (2022). Substance use in the transgender population: A meta-analysis. *Brain Sciences*, 12(3), 366. <https://doi.org/10.3390/brainsci12030366>
- Díaz-Fernández, S., Miranda, J. J. F., Pastor, F. P. y Muñoz, F. L. (2023). Gender and addiction and other mental disorders comorbidity: Sociodemographic, clinical, and treatment differences. *Archives of women's mental health*, 26(5), 639-650. <https://doi.org/10.1007/s00737-023-01353-w>
- Donovan, R. A. y West, L. M. (2014). Stress and mental health: Moderating role of the strong black woman stereotype. *Journal of Black Psychology*, 41(4), 384-396. <https://doi.org/10.1177/0095798414543014>
- Dragan, M. (2015). Difficulties in emotion regulation and problem drinking in young women: The mediating effect of metacognitions about alcohol use. *Addictive Behaviors*, 48, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2015.04.008>
- Efthim, P. W., Kenny, M. E. y Mahalik, J. R. (2011). Gender role stress in relation to shame, guilt, and externalization. *Journal of Counseling & Development*, 79(4), 430-438. <https://doi.org/10.1002/j.1556-6676.2001.tb01990.x>
- Fernández-Artamendi, S., Florez Menéndez, G., Cortés-Tomás, M. T. y Pascual Pastor, F. S. (2024). Dual pathology? Reviewing the conceptualization of comorbidity in addictions. ¿Patología dual? Revisando la conceptualización de la comorbilidad en adicciones. *Adicciones*, 36(1), 3-10. <https://doi.org/10.20882/adicciones.2053>
- Fernández-Miranda, J. J., Fontoba-Díaz, J., Díaz-Fernández, S. y Pascual-Pastor, F. (2024). Co-occurrence of substance use disorders and other mental disorders in people undergoing specific treatment for any of them in Spain. Concurrencia de trastorno por consumo de sustancias y de otro trastorno mental en personas en tratamiento por alguno de ellos en España. *Adicciones*, 36(1), 31-40. <https://doi.org/10.20882/adicciones.1692>
- Flentje, A., Bacca, C. L. y Cochran, B. N. (2015). Missing data in substance abuse research? Researchers' reporting practices of sexual orientation and gender identity. *Drug and alcohol dependence*, 147, 280-284. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.11.012>
- Fonseca, F., Robles-Martínez, M., Tirado-Muñoz, J., Alías-Ferri, M., Mestre-Pintó, J. I., Coratu, A. M. y Torrells, M. (2021). A gender perspective of addictive disorders. *Current Addiction Reports*, 8(1), 89-99. <https://doi.org/10.1007/s40429-021-00357-9>
- Fox, H. C., Sofuoğlu, M., Morgan, P. T., Tuit, K. L. y Sinha, R. (2013). The effects of exogenous progesterone on drug craving and stress arousal in cocaine dependence: Impact of gender and cue type. *Psychoneuroendocrinology*, 38(9), 1532-1544. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.12.022>
- Fullerton, E. F., Doyle, H. H. y Murphy, A. Z. (2018). Impact of sex on pain and opioid analgesia: A review. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 23, 183-190. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.08.001>
- Gillies, G. E., Virdee, K., McArthur, S. y Dalley, J. W. (2014). Sex-dependent diversity in ventral tegmental dopaminergic neurons and developmental programming: A molecular, cellular and behavioral analysis. *Neuroscience*, 282, 69-85. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.033>
- Gómez-Gil, E., Zubiaurre-Elorza, L., Esteva, I., Guillamón, A., Godás, T., Cruz Almaraz, M., Halperin, I. y Salamero, M. (2012). Hormone-treated transsexuals report less social distress, anxiety and depression. *Psychoneuroendocrinology*, 37(5), 662-670. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.08.010>
- Gómez-Sánchez-Lafuente, C., Guzman-Parra, J., Suarez-Perez, J., Bordallo-Aragon, A., Rodriguez-de-Fonseca, F. y Mayoral-Cleries, F. (2022). Trends in psychiatric hospitalizations of patients with dual diagnosis in Spain. *Journal of Dual Diagnosis*, 18(2), 92-100. <https://doi.org/10.1080/15504263.2022.2053770>
- Green, K. E. y Feinstein, B. A. (2012). Substance use in lesbian, gay, and bisexual populations: An update on empirical research and implications for treatment. *Psychology of addictive behaviors: Journal of the Society of Psychologists in Addictive Behaviors*, 26(2), 265-278. <https://doi.org/10.1037/a0025424>

- Greenfield, S. F., Brooks, A. J., Gordon, S. M., Green, C. A., Kropp, F., McHugh, R. K.,... Miele, G. M. (2007). Substance abuse treatment entry, retention, and outcome in women: A review of the literature. *Drug and Alcohol Dependence*, 86(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2006.05.012>
- Greenfield, S. F., Back, S. E., Lawson, K. y Brady, K. T. (2010). Substance abuse in women. *Psychiatric Clinics of North America*, 33 (2), 339-355. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2010.01.004>
- Harris, M. T. H., Laks, J., Stahl, N., Bagley, S. M., Saia, K. y Wechsberg, W. M. (2022). Gender dynamics in substance use and treatment: A women's focused approach. *The Medical clinics of North America*, 106(1), 219–234. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2021.08.007>
- Hendricks, M. L. y Testa, R. J. (2012). A conceptual framework for clinical work with transgender and gender nonconforming clients: An adaptation of the minority stress model. *Professional Psychology: Research and Practice*, 43(5), 460–467. <https://doi.org/10.1037/a0029597>
- Hoffman, R. M. (2001). The measurement of masculinity and femininity: Historical perspective and implications for counseling. *Journal of Counseling and Development*, 79(4), 472–485. <https://doi.org/10.1002/j.1556- 6676.2001.tb01995.x>
- Howard, H. (2015). Reducing stigma: Lessons from opioid-dependent women. *Journal of Social Work Practice in the Addictions*, 15(4), 418-438. <https://doi.org/10.1080/1533256X.2015.1091003>
- Hughto, J. M. W., Quinn, E. K., Dunbar, M. S., Rose, A. J., Shireman, T. I., Wintfeld, N. y Cahill, S. R. (2021). Prevalence and co-occurrence of substance use disorder diagnoses among US transgender adults. *JAMA Network Open*, 4(2), e2036512. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.36512>
- Hughto, J. M. W., Reisner, S. L. y Pachankis, J. E. (2015). Transgender stigma and health: A critical review of stigma determinants, mechanisms, and interventions. *Social Science & Medicine*, 147, 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2015.11.010>
- Iwamoto, D. K., Grivel, M., Cheng, A., Clinton, L. y Kaya, A. (2016). Asian American women and alcohol-related problems: The role of multidimensional feminine norms. *Journal of Immigrant and Minority Health*, 18, 687–695. <https://doi.org/10.1007/s10903-015-0159-3>
- Iwamoto, D. K., Corbin, W., Takamatsu, S. y Castellanos, J. (2018). The association between multidimensional feminine norms, binge drinking and alcohol-related problems among young adult college women. *Addictive behaviors*, 76, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2017.08.016>
- Jessani, A., Berry-Moreau, T., Parmar, R., Athanasakos, A., Prodrger, J. L. y Mujugira, A. (2024). Healthcare access and experiences of transgender and gender diverse people in African countries: A systematic review. *BMC Global Public Health* 2(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s44263-024-00073-2>
- Johnson, A. H., Hill, I., Beach-Ferrara, J., Rogers, B. A. y Bradford, A. (2019). Common barriers to healthcare for transgender people in the US South. *International Journal of Transgender Health*, 21(1), 70–78. <https://doi.org/10.1080/15532739.2019.1700203>
- Katz, N. y Mazer, N. A. (2009). The impact of opioids on the endocrine system. *The Clinical Journal of Pain*, 25(2), 170–175. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e3181850df6>
- Kaufman, M. R., Eschliman, E. L. y Karver, T. S. (2023). Differentiating sex and gender in health research to achieve gender equity. *Bulletin of the World Health Organization*, 101(10), 666–671. <https://doi.org/10.2471/BLT.22.289310>
- Kaya, A., Iwamoto, D. K., Grivel, M., Clinton, L. y Brady, J. (2016). The role of feminine and masculine norms in college women's alcohol use. *Psychology of Men & Masculinity*, 17(2), 206–214. <https://doi.org/10.1037/men0000017>
- Kidd, J. D., Levin, F. R., Dolezal, C., Hughes, T. L. y Bockting, W. O. (2019). Understanding predictors of improvement in risky drinking in a U.S. multi-site, longitudinal cohort study of transgender individuals: Implications for culturally-tailored prevention and treatment efforts. *Addictive behaviors*, 96, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2019.04.017>
- Kidd, J. D., Tettamanti, N. A., Kaczmarkiewicz, R., Corbeil, T. E., Dworkin, J. D., Jackman, K. B., Hughes, T. L., Bockting, W. O. y Meyer, I. H. (2023). Prevalence of substance use and mental health problems among transgender and cisgender U.S. adults: Results from a national probability sample. *Psychiatry Research*, 326, 115339. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2023.115339>
- Kingsbury, M. y Findlay, L. (2024). Mental health and access to support among 2SLGBTQ+ youth. *Health reports*, 35(11), 12–22. <https://doi.org/10.25318/82-003-x202401100002-eng>
- Klein, H. y Washington, T. A. (2024). Evidence of syndemic effects influencing older transgender persons' likelihood of contemplating suicide: Results from a large national study. *Aging & Mental Health*, 28(3), 1–11. <https://doi.org/10.1080/13607863.2023.2275153>
- Kline, N. S., Webb, N. J., Johnson, K. C., Yording, H. D., Griner, S. B. y Brunell, D. J. (2023). Mapping transgender policies in the US 2017-2021: The role of geography and implications for health equity. *Health & Place*, 80(102985), 102985. <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2023.102985>
- Klingemann, J. I. y Klingemann, H. (2023). Masculinity and addiction: A narrative review of therapeutic interventions for men with substance-use disorders. *Alkoholizm i narkomania*, 36(3), 207–220. <https://doi.org/10.5114/ain.2023.134777>

- Kokane, S. S. y Perrotti, L. I. (2020). Sex differences and the role of estradiol in mesolimbic reward circuits and vulnerability to cocaine and opiate addiction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14, 74. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00074>
- Komáreková, I., Straka, L., Novomeský, F. y Hejna, P. (2013). Gender differences in alcohol affection on an individual. *Soudni Lekarstvi*, 58(3), 36–38.
- Korpaisarn, S. y Safer, J. D. (2018). Gaps in transgender medical education among healthcare providers: A major barrier to care for transgender persons. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 19, 271–275. <https://doi.org/10.1007/s11154-018-9452-5>
- Kozak, K., H Smith, P., Lowe, D. J. E., Weinberger, A. H., Cooper, Z. D., Rabin, R. A. y George, T. P. (2021). A systematic review and meta-analysis of sex differences in cannabis use disorder amongst people with comorbid mental illness. *The American journal of drug and alcohol abuse*, 47(5), 535–547. <https://doi.org/10.1080/00952990.2021.1946071>
- Kulis, S., Marsiglia, F. F., Lingard, E. C., Nieri, T. y Nagoshi, J. (2008). Gender identity and substance use among students in two high schools in Monterrey, Mexico. *Drug and alcohol dependence*, 95(3), 258–268. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.01.019>
- Kvamme, T. L., Schmidt, C., Strelchuk, D., Chang-Webb, Y. C., Baek, K. y Voon, V. (2016). Sexually dimorphic brain volume interaction in college-aged binge drinkers. *NeuroImage: Clinical*, 10, 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.12.004>
- Leadbeater, B. J., Ames, M. E. y Linden-Carmichael, A. N. (2019). Age-varying effects of cannabis use frequency and disorder on symptoms of psychosis, depression and anxiety in adolescents and adults. *Addiction (Abingdon, England)*, 114(2), 278–293. <https://doi.org/10.1111/add.14459>
- Levant, R., Richmond, K., Cook, S., House, A. T. y Au-pont, M. (2007). The Femininity Ideology Scale: Factor structure, reliability, convergent and discriminant validity, and social contextual variation. *Sex Roles: A Journal of Research*, 57(5-6), 373–383. <https://doi.org/10.1007/s11199-007-9258-5>
- Lyons, A. C. y Willott, S. A. (2008). Alcohol consumption, gender identities, and women's changing social position. *Sex Roles*, 59, 694–712. <https://doi.org/10.1007/s11199-008-9475-6>
- Mahalik, J. R., Morray, E. B., Coonerty-Femiano, A., Ludlow, L. H., Slattery, S. M. y Smiler, A. (2005). Development of the Conformity to Feminine Norms Inventory. *Sex Roles*, 52(7–8), 417–435. <https://doi.org/10.1007/s11199-005-3709-7>
- Mangrum, L. F., Spence, R. T. y Lopez, M. (2006). Integrated versus parallel treatment of co-occurring psychiatric and substance use disorders. *Journal of substance abuse treatment*, 30(1), 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2005.10.004>
- Marchi, M., Travascio, A., Uberti, D., De Micheli, E., Grenzi, P., Arcolin, E., Pingani, L., Ferrari, S. y Galeazzi, G. M. (2023). Post-traumatic stress disorder among LGBTQ people: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*, 32, e44. <https://doi.org/10.1017/S2045796023000586>
- Marchi, M., Travascio, A., Uberti, D., De Micheli, E., Quartaroli, F., Laquatra, G., Grenzi, P., Pingani, L., Ferrari, S., Fiorillo, A., Converti, M., Pinna, F., Amadeo, F., Ventriglio, A., Mirandola, M. y Galeazzi, G. M. (2024). Microaggression toward LGBTIQ people and implications for mental health: A systematic review. *International Journal of Social Psychiatry*, 70(1), 23–35. <https://doi.org/10.1177/00207640231194478>
- Mburu, G., Limmer, M. y Holland, P. (2019). HIV risk behaviours among women who inject drugs in coastal Kenya: Findings from secondary analysis of qualitative data. *Harm reduction journal*, 16(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s12954-019-0281-y>
- McCartin, M., Cannon, L. M., Harfmann, R. F., Dalton, V. K., MacAfee, L. K. y Kusunoki, Y. (2022). Stigma and reproductive health service access among women in treatment for substance use disorder. *Women's Health Issues*, 32(6), 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.whi.2022.06.003>
- McHugh, R. K., Votaw, V. R., Sugarman, D. E. y Greenfield, S. F. (2018). Sex and gender differences in substance use disorders. *Clinical Psychology Review*, 66, 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2017.10.012>
- Meyer, J. P., Isaacs, K., El-Shahawy, O., Burlew, A. K. y Wechsberg, W. (2019). Research on women with substance use disorders: Reviewing progress and developing a research and implementation roadmap. *Drug and alcohol dependence*, 197, 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2019.01.017>
- Miquel, L., Roncero, C., García-García, G., Barral, C., Daigre, C., Grau-López, L., Bachiller, D. y Casas, M. (2013). Gender differences in dually diagnosed outpatients. *Substance abuse*, 34(1), 78–80. <https://doi.org/10.1080/08897077.2012.709223>
- Morris, V. L., Owens, M. M., Syan, S. K., Petker, T. D., Sweet, L. H., Oshri, A., MacKillop, J. y Amlung, M. (2019). Associations between drinking and cortical thickness in younger adult drinkers: Findings from the Human Connectome Project. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 43(9), 1918–1927. <https://doi.org/10.1111/acer.14147>
- Morris, P. E., Vargo, L. A. y Buckner, J. D. (2024). Social anxiety and cannabis-related problems: The serial roles of distress tolerance and cannabis use motives. *Substance Use & Misuse*, 59(7), 1133–1140. <https://doi.org/10.1080/10826084.2024.2320400>
- National Institute on Drug Abuse. (2020). Substance use in women: Sex and gender differences in substance use. <https://nida.nih.gov/publications/research-reports/>

- substance-use-women/sex-gender-differences-in-substance-use
- Nie, L., Ghahremani, D. G., Mandelkern, M. A., Dean, A. C., Luo, W., Ren, A., Li, J. y London, E. D. (2021). The relationship between duration of abstinence and gray-matter brain structure in chronic methamphetamine users. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 47(1), 65-73. <https://doi.org/10.1080/00952990.2020.1778712>
- Novick, D., Montgomery, W., Treuer, T., Moneta, M. V. y Haro, J. M. (2016). Sex differences in the course of schizophrenia across diverse regions of the world. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 12, 2927-2939. <https://doi.org/10.2147/NDT.S101151>
- Peart, D. R., Andrade, A. K., Logan, C. N., Knackstedt, L. A. y Murray, J. E. (2022). Regulation of cocaine-related behaviours by estrogen and progesterone. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 135(104584), 104584. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104584>
- Pfefferbaum, A., Rohlfing, T., Pohl, K. M., Lane, B., Chu, W., Kwon, D., Nichols, B. N., Brown, S. A., Tapert, S. F., Cummins, K., Thompson, W. K., Brumback, T., Meloy, M. J., Jernigan, T. L., Dale, A., Colrain, I. M., Baker, F. C., Prouty, D., De Bellis, M. D. y Sullivan, E. V. (2016). Adolescent development of cortical and white matter structure in the NCANDA sample: Role of sex, ethnicity, puberty, and alcohol drinking. *Cerebral Cortex*, 26(10), 4101-4121. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv205>
- Phillips, J. C., Cornelius, J. B., Neira, P. M., Hein, L., Ducar, D., Rose, C. D., Rosa, W. E., Ballout, S., Nagel, D. A., Millender, E. I. F., Neft, M. W., Jablonski, R. A., Murray, T. A., Stamps, D. C., Brous, E. y Keepnews, D. M. (2025). Advancing human rights, health equity, and equitable health policy with LGBTQ+ people: An American Academy of Nursing consensus paper. *Nursing Outlook*, 73(5), 102496. <https://doi.org/10.1016/j.outlook.2025.102496>
- Poteat, T., Davis, A. M. y Gonzalez, A. (2023). Standards of care for transgender and gender diverse people. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 329(21), 1872-1874. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.8121>
- Prieto-Arenas, L., Diaz, I. y Arenas, M. C. (2022). Gender differences in dual diagnoses associated with cannabis use: A review. *Brain sciences*, 12(3), 388. <https://doi.org/10.3390/brainsci12030388>
- Rando, K., Tuit, K., Hannestad, J., Guarnaccia, J. y Sinha, R. (2013). Sex differences in decreased limbic and cortical grey matter volume in cocaine dependence: A voxel-based morphometric study. *Addiction Biology*, 18(1), 147-160. <https://doi.org/10.1111/adb.12008>
- Reback, C. J. y Fletcher, J. B. (2014). HIV prevalence, substance use, and sexual risk behaviors among transgender women recruited through outreach. *AIDS and behavior*, 18(7), 1359-1367. <https://doi.org/10.1007/s10461-013-0657-z>
- Regner, M. F., Dalwani, M., Yamamoto, D., Perry, R. I., Sakai, J. T., Honce, J. M. y Tanabe, J. (2015). Sex differences in gray matter changes and brain-behavior relationships in patients with stimulant dependence. *Radiology*, 277(3), 801-812. <https://doi.org/10.1148/radiol.2015142541>
- Reisner, S. L. y Hughto, J. M. W. (2019). Comparing the health of non-binary and binary transgender adults in a statewide non-probability sample. *PLoS one*, 14(8), e0221583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221583>
- Sánchez-López, M. P. (2013). La salud desde la perspectiva de género: El estado de la cuestión. In M. P. Sánchez-López (Ed.), *La salud de las mujeres* (pp. 17-40). Madrid, España: Síntesis.
- Sánchez-López, M. P. y Limiñana-Gras, R. M. (2017). Health from a gender perspective. En M. P. Sánchez-López y R. M. Limiñana-Gras (Eds.), *The Psychology of Gender and Health* (pp. 1-52). London: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803864-2.00001-8>
- Sánchez-López, M. P., Saavedra, A. I., Dresch, V. y Limiñana-Gras, R. M. (2014). Conformity to traditional gender norms in a feminized occupation: The influence on health behaviors. *Health*, 6(20), 2775-2789. <https://doi.org/10.4236/health.2014.620317>
- Santos, G. M., Rapues, J., Wilson, E. C., Macias, O., Packer, T. y Raymond, H. F. (2014). Alcohol and substance use among transgender women in San Francisco: Prevalence and association with human immunodeficiency virus infection. *Drug and Alcohol Review*, 33(3), 287-295. <https://doi.org/10.1111/dar.12116>
- Sardari, M., Mohammadpourmir, F., Hosseinzadeh Sahaifi, O. y Rezayof, A. (2024). Neuronal biomarkers as potential therapeutic targets for drug addiction related to sex differences in the brain: Opportunities for personalized treatment approaches. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 134, 111068. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2024.111068>
- Sawyer, K. S., Maleki, N., Papadimitriou, G., Makris, N., Oscar-Berman, M. y Harris, G. J. (2018). Cerebral white matter sex dimorphism in alcoholism: A diffusion tensor imaging study. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 43(9), 1876-1883. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0089-6>
- Sawyer, K. S., Oscar-Berman, M., Barthelemy, O. J., Papadimitriou, G. M., Harris, G. J. y Makris, N. (2017). Gender dimorphism of brain reward system volumes in alcoholism. *Psychiatry Research. Neuroimaging*, 263, 15-25. <https://doi.org/10.1016/j.pscychresns.2017.03.001>
- Schechner, J., Zaykowski, K., Haghigiat, D. y Ruderman, M. (2025). Transgender and gender diverse patients' experiences with pregnancy-related genetics discussions: A qualitative study. *Journal of Genetic Counseling*, 34(2), e2018. <https://doi.org/10.1002/jgc4.2018>
- Scheim, A. I., Bauer, G. R. y Shokoohi, M. (2017). Drug use among transgender people in Ontario, Canada: Disparities and associations with social exclusion. *Addictive*

- Behaviors*, 72, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2017.03.022>
- Schuler, M. S. y Collins, R. L. (2020). Sexual minority substance use disparities: Bisexual women at elevated risk relative to other sexual minority groups. *Drug and alcohol dependence*, 206, 107755. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2019.107755>
- Schuler, M. S., Rice, C. E., Evans-Polce, R. J. y Collins, R. L. (2018). Disparities in substance use behaviors and disorders among adult sexual minorities by age, gender, and sexual identity. *Drug and alcohol dependence*, 189, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2018.05.008>
- Shakya, H. B., Domingue, B., Nagata, J. M., Cislaghi, B., Weber, A. y Darmstadt, G. L. (2019). Adolescent gender norms and adult health outcomes in the USA: A prospective cohort study. *The Lancet. Child & adolescent health*, 3(8), 529–538. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(19\)30160-9](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(19)30160-9)
- Silveri, G., Schimmenti, S., Prina, E., Gios, L., Mirandola, M., Converti, M. y Bragazzi, N. L. (2022). Barriers in care pathways and unmet mental health needs in LGBTIQ+ communities. *International Review of Psychiatry*, 34(3–4), 215–229. <https://doi.org/10.1080/09540261.2022.2075256>
- Smith, H. S. y Elliott, J. A. (2012). Opioid-induced androgen deficiency (OPIAD). *Pain Physician*, 15(Suppl. 3), ES145–156.
- Stone, R., Campbell, J. K., Kinney, D. y Rothman, E. F. (2021). “He Would Take My Shoes and All the Baby’s Warm Winter Gear so We Couldn’t Leave”: Barriers to safety and recovery experienced by a sample of Vermont women with partner violence and opioid use disorder experiences. *Journal of Rural Health*, 37(1), 35–44. <https://doi.org/10.1111/jrh.12518>
- Sword, W., Jack, S., Niccols, A., Milligan, K., Henderson, J. y Thabane, L. (2009). Integrated programs for women with substance use issues and their children: A qualitative meta-synthesis of processes and outcomes. *Harm Reduction Journal*, 6, 32. <https://doi.org/10.1186/1477-7517-6-32>
- Szerman, N., Marín-Navarrete, R., Fernández-Mondragón, J. y Roncero, C. (2015). Patología dual en poblaciones especiales: Una revisión narrativa. *Revista internacional de investigación en adicciones*, 1(1), 50–67. <http://dx.doi.org/10.28931/riiad.2015.1.07>
- Szerman, N., Torrens, M., Maldonado, R., Balhara, Y. P. S., Salom, C., Maremmani, I., Sher, L., Didia-Attas, J., Chen, J., Baler, R. y World Association on Dual Disorders (WADD) (2022). Addictive and other mental disorders: A call for a standardized definition of dual disorders. *Translational psychiatry*, 12(1), 446. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02212-5>
- Thibaut, F. (2018). Gender differences in addiction: Clinical implications. *Psychiatric Times*, 35(11), 17–18. <https://www.psychiatrictimes.com/view/gender-differences-addiction-clinical-implications>
- Thorne, N., Yip, A. K., Bouman, W. P., Marshall, E. y Arce-lus, J. (2019). The terminology of identities between, outside and beyond the gender binary—A systematic review. *International Journal of Transgenderism*, 20(2–3), 138–154. <https://doi.org/10.1080/15532739.2019.1640654>
- Tirado-Muñoz, J., Gilchrist, G., Fischer, G., Taylor, A., Moskalewicz, J., Giannarchi, C. y Torrens, M. (2018). Psychiatric comorbidity and intimate partner violence among women who inject drugs in Europe: A cross-sectional study. *Archives of Women’s Mental Health*, 21(3), 259–269. <https://doi.org/10.1007/s00737-017-0800-3>
- Torrens-Melich, M., Orengo, T., Rodríguez de Fonseca, F., Almodóvar, I., Baquero, A. y Benito, A. (2021). Gender perspective in dual diagnosis. *Brain sciences*, 11(8), 1101. <https://doi.org/10.3390/brainsci11081101>
- Trillo, A. D., Merchant, R. C., Baird, J. R., Liu, T. y Nirenberg, T. D. (2012). Sex differences in alcohol misuse and estimated blood alcohol concentrations among emergency department patients: Implications for brief interventions. *Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine*, 19(8), 924–933. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2012.01408.x>
- van der Meer, F. J., Velthorst, E., Risk, G. y Group, P. (2015). Course of cannabis use and clinical outcome in patients with non-affective psychosis: A 3-year follow-up study. *Psychol. Med.*, 2015, 45(9), 1977–1988. <http://dx.doi.org/10.1017/S0033291714003092>
- Van Gundy, K., Schieman, S., Kelley, M. S. y Rebellon, C. J. (2005). Gender role orientations and alcohol use among Moscow and Toronto adults. *Social science & medicine* (1982), 61(11), 2317–2330. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2005.07.033>
- Williams, N. D. y Fish, J. N. (2020). The availability of LGBT-specific mental health and substance abuse treatment in the United States. *Health services research*, 55(6), 932–943. <https://doi.org/10.1111/1475-6773.13559>
- Wolfe, H. L., Biello, K. B., Reisner, S. L., Mimiaga, M. J., Cahill, S. R. y Hughto, J. M. W. (2021). Transgender-related discrimination and substance use, substance use disorder diagnosis and treatment history among transgender adults. *Drug and alcohol dependence*, 223, 108711. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2021.108711>
- World Health Organization. (2011). Gender mainstreaming for health managers: A practical approach. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44516>
- Zahr, N. M., Lenart, A. M., Karpf, J. A., Casey, K. M., Pohl, K. M., Sullivan, E. V. y Pfefferbaum, A. (2020). Multi-modal imaging reveals differential brain volumetric, biochemical, and white matter fiber responsivity to repeated intermittent ethanol vapor exposure in male and female rats. *Neuropharmacology*, 170(108066), 108066. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108066>



ORIGINAL

Isoflavonas de soja para el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína: Un estudio piloto abierto

Soy isoflavones for the treatment of cocaine use disorder: An open-label pilot study

ROSER MARTÍNEZ-RIERA*, **; FRANCINA FONSECA*, ***; RAFAEL DE LA TORRE***, ****;
NIEVES PIZARRO***, *****; LILIANA GALINDO*, *****; JOAN INGNASI MESTRE-PINTÓ*, *****;
MAGÍ FARRÉ*****; MARTA TORRENS*, **, *****.

* Instituto de Salud Mental-Hospital del Mar, Barcelona, España, Instituto de Investigación Hospital del Mar (IMIM), Programa Neurociencias- Grupo Investigación en Adicciones, Barcelona, España.

** Red de Salud Mental de Gipuzkoa, Instituto de Investigación Biogipuzcoa, Área de Neurociencias, Grupo de Salud Mental y Atención Psiquiátrica, San Sebastián, España.

*** Facultad de Medicina y Ciencias de la Vida (MELIS), Universidad Pompeu Fabra, Barcelona, España.

**** Instituto de Investigación Hospital del Mar (IMIM), Programa Neurociencias-Grupo de investigación en Farmacología integrada y Neurociencia de sistemas, Barcelona, España.

***** Departamento de Psiquiatría, Universidad de Cambridge/Servicio de Salud Cambridgeshire and Peterborough NHS Foundation Trust, Cambridge, Reino Unido.

***** Facultad de Derecho, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona, España.

***** Unidad de Farmacología Clínica, Hospital Universitario Germans Triás i Pujol e Instituto de Investigación Germans Triás y Pujol (IGTP), Badalona, España.

***** Departamento de Farmacología, de Terapéutica y de Toxicología, Universidad Autónoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallés, España.

***** Facultad de Medicina, Universidad de Vic i Central de Catalunya, Vic, España.

Resumen

La soja y sus habas contienen diferentes isoflavonas (principalmente daidzeína) que actúan como inhibidores reversibles de la enzima aldehído-deshidrogenasa-2 (ALDH2). Esta actividad se ha relacionado en experimentos con animales con una reducción del consumo de cocaína. Nuestro objetivo fue llevar a cabo un estudio clínico piloto abierto para evaluar la posible eficacia de las isoflavonas de soja, como inhibidor natural de ALDH2, en el trastorno por consumo de cocaína. Nueve sujetos con trastorno grave por consumo de cocaína participaron en un ensayo unicéntrico, abierto y no controlado durante 12 semanas de tratamiento y 4 de seguimiento. El Substance Use Report (SUR) mostró que tres sujetos (33,3%) informaron un consumo de cocaína inferior al 20% (80% de días sin consumo) entre las semanas 10 y 12 del período de tratamiento, frente a dos (22,2%) al inicio, aunque sin significación estadística. Un hallazgo que no pudo ser confirmado mediante la detección de metabolitos urinarios de cocaína. Siete participantes (77,8%) completaron el estudio en la semana 16 y uno (11,1%) en la semana 12. Las concentraciones urinarias de isoflavonas demostraron que ocho participantes (88,9%) siguieron el tratamiento a lo largo del estudio. La puntuación de la Severity Dependence Scale (SDS) mostró una disminución significativa entre el inicio y las 12 semanas, entre el inicio y las 16 semanas y entre las semanas 12 y 16; la Brief Substance Craving Scale (BSCS) y la Cocaine Selective Severity Assessment (CSSA) disminuyeron sus valores pero no significativamente. Se observaron mejoras significativas en diferentes áreas de la escala Health Survey SF-36 (SF-36): las puntuaciones de dolor corporal disminuyeron desde el inicio hasta 16 semanas de forma estadísticamente significativa; la función social mejoró sus puntuaciones desde el inicio hasta 12 semanas y desde el inicio hasta 16 semanas de manera significativa; el resto de las áreas aumentaron sus puntuaciones pero sin significación. Estos hallazgos muestran menores proporciones de días de consumo de cocaína, y elevada retención y adherencia al tratamiento, aunque no se observó la adquisición de abstinencia completa. Las isoflavonas de soja podrían considerarse un tratamiento potencial en futuras investigaciones, lo cual deberá confirmarse en estudios controlados con placebo y tamaño muestral adecuado.

Palabras clave: cocaína, enzima aldehído-deshidrogenasa-2, daidzina, daidzeína, extracto de isoflavonas de soja, estudio clínico

Abstract

Soybeans contain different isoflavones (mainly daidzein) which work as reversible inhibitors of aldehyde-dehydrogenase-2 enzyme (ALDH2). This activity has been related in animal experiments with a reduction of cocaine use. Our aim was to carry out an open-label pilot study to evaluate the possible efficacy of soy isoflavones as natural inhibitor of ALDH2 in cocaine use disorder. Nine subjects with severe cocaine use disorder participated in a single-center, open, non-controlled trial during 12 weeks of treatment and 4 of follow-up. The Substance Use Report (SUR) showed that three subjects (33.3%) reported a cocaine consumption of less than 20% (80% non-use days) from 10 to 12 weeks of the treatment period, from two (22.2%) at baseline, although non-significant. A finding that could not be confirmed by the detection of urine metabolites of cocaine. Seven participants (77.8%) completed the study at 16 weeks and one (1.1%) at 12 weeks. Urine concentrations of isoflavones, demonstrated that eight participants (88.9%) followed the treatment along the study. The Severity Dependence Scale (SDS) score showed a significant decrease between baseline to 12 weeks, baseline to 16 weeks and 12 to 16 weeks; the Brief Substance Craving Scale (BSCS) and Cocaine Selective Severity Assessment (CSSA) decreased their values but not significantly. Significant improvements in different areas of the SF-36 scale were observed: body pain scores decreased from baseline to 16 weeks statistically significant; social function improved its scores from baseline to 12 weeks and from baseline to 16 weeks significantly; the rest of areas increased their scores but not significantly. These findings show lower ratios of cocaine use days, and high retention and adherence to treatment although the acquisition of complete abstinence was not observed. Soy isoflavones could be considered a potential treatment in future research, to be confirmed by placebo-controlled studies with adequate sample size.

Keywords: cocaína, enzima aldehído-deshidrogenasa-2, daidzina, daidzeína, extracto de isoflavonas de soja, estudio clínico

■ Recibido: Mayo 2025; Aceptado: Septiembre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Magí Farré. Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia. Facultat de Medicina, Edifici M. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Cerdanyola del Vallès. Email: Magi.Farre@uab.cat

El Informe Mundial sobre Drogas 2024, publicado por la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC, 2024), señala que en 2022 aproximadamente 23 millones de personas (rango: 18,5-29,6 millones; 0,45%-0,57% de la población total) habían consumido cocaína al menos una vez en el último año. Según el Informe Europeo sobre Drogas 2024 del Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (EMCDDA) (EMCDDA, 2024), la cocaína se ha convertido en la segunda droga ilícita consumida con mayor frecuencia en Europa. El informe también advierte sobre el creciente potencial de riesgos para la salud.

La cocaína actúa inhibiendo los transportadores de monoaminas de la membrana neuronal presináptica. A través de esta inhibición bloquea la recaptación de monoaminas, lo que produce un aumento de dopamina y de las concentraciones de otras monoaminas (noradrenalina y serotonina) en la hendidura sináptica (Camí et al., 2003; Fernández-Castillo et al., 2021). La euforia, la sensación de placer y otros efectos reforzadores positivos de la cocaína están relacionados no solo con cambios en el transportador de dopamina a nivel presináptico, sino también con cambios en los complejos de homo y heteroreceptores de dopamina a nivel postsináptico y con el desarrollo inadaptado de la memoria de droga, tanto en las vías GABAérgicas ventrales estriato-pálidas de recompensa como de anti-recompensa (Borroto-Escuela et al., 2019; Milton y Everitt, 2012). La administración continuada y crónica de cocaína induce cambios en varios sistemas de neurotransmisión que afectan la función de diferentes áreas y circuitos, como el sistema mesocorticolímbico (núcleo accumbens, área tegmental ventral y corteza prefrontal) (Fernández-Castillo et al., 2021). Produce una reducción del número de receptores de dopamina en el sistema nervioso central y, como resultado, una menor sensibilidad del sistema de recompensa (Ashok et al., 2017). Sin embargo, trabajos recientes demuestran que deben considerarse otros cambios en la estructura y función del receptor de dopamina; por ejemplo, los complejos patológicos A2AR-D2R, D2R-Sigma1R y A2AR-D2R-Sigma1R inducidos por cocaína pueden formar una memoria a largo plazo con un fuerte y permanente freno D2R, conduciendo a la adicción a la cocaína (Borroto-Escuela et al., 2017; Borroto-Escuela et al., 2018; Koob y Volkow, 2010). A nivel clínico, tales cambios moleculares resultan en un aumento del consumo repetitivo y compulsivo (uso tipo *binge*) (Koob y Volkow, 2010) y pérdida de control conductual. Se han descrito anomalías neuroanatómicas en consumidores de cocaína, como la reducción del volumen de sustancia gris en la corteza prefrontal y la consecuente disfunción de esta región (Ciccarone y Shopaw, 2022; Hirsiger et al., 2019; Volkow et al., 2011).

Todavía no existen fármacos específicos ni psicoterapia para el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína (Farrel et al., 2019; Kampman, 2019). Se han publicado

datos sobre el uso terapéutico de ciertos fármacos, incluidos anticonvulsivantes (Álvarez et al., 2010; Minozzi et al., 2015), psicoestimulantes (Castells et al., 2016; Pérez-Mañá et al., 2011), antidepresivos (Pani et al., 2011; Torrens et al., 2011) y antipsicóticos (Álvarez et al., 2013; Bentzley et al., 2021; Indave et al., 2016), aunque sin suficiente eficacia ni evidencia. Las líneas de investigación actuales se centran en los mecanismos de producción de diferentes monoaminas (Kohut et al., 2017), y, hasta la fecha, el disulfiram, que interactúa con la producción de dopamina, ha mostrado los resultados clínicos más prometedores (Gaval-Cruz et al., 2009; Kampangkaew et al., 2019; Pani et al., 2010; Schroeder et al., 2010; Weinshenker, 2010). Sin embargo, los hallazgos siguen siendo controvertidos, ya que algunos estudios han informado resultados beneficiosos mientras que otros no (Carroll et al., 2016). Por otro lado, considerando las altas tasas de consumo concomitante de alcohol y cocaína (60% o más) en la población (Araos et al., 2017), existe una limitación crucial en el uso de disulfiram. Este compuesto está contraindicado si se consume alcohol simultáneamente porque es un inhibidor irreversible de la aldehído-deshidrogenasa-1 (ALDH1) y podría inducir una reacción adversa.

Varios estudios han sugerido que los inhibidores selectivos de la enzima aldehído-deshidrogenasa-2 (ALDH2) podrían ser efectivos para el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína (Koppaka et al., 2012; Weinshenker, 2010; Yao et al., 2010). La inhibición de ALDH2 bloquea la conversión del sustrato 3,4-dihidroxifenilacetaldéhido (DOPAL) a ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC), aumentando sus concentraciones y, en consecuencia, formando con la dopamina el producto de condensación tetrahidropapaverolina (THP) en el área tegmental ventral. La THP disminuye la biosíntesis de dopamina mediante la inhibición de la tirosina hidroxilasa (TH) y, como resultado, se reduce la capacidad de producir refuerzo positivo. Se han descrito inhibidores reversibles naturales y selectivos de ALDH2 en las isoflavonas del extracto de soja (Lowe et al., 2008). Las más prominentes son genistina, glicitina y especialmente daidzina. Los metabolitos activos de la daidzina, genistina y glicitina son daidzeína, genisteína y gliciteína, respectivamente. Además, a nivel intestinal, las bacterias transforman la daidzeína en otro metabolito activo, el equol. Diversos estudios han confirmado la acción selectiva de las isoflavonas sobre ALDH2, pero no sobre ALDH1, a diferencia del disulfiram. Como consecuencia, si se consume alcohol no aparecerán los efectos adversos relacionados (Amigdala Neurosciences, 2025; Martínez-Riera et al., 2019; Penetar et al., 2011). Durante siglos, la medicina tradicional china ha empleado isoflavonas para el tratamiento del trastorno por consumo de alcohol (Lu et al., 2009; Overstreet et al., 2003), y estudios en animales (Arolfo et al., 2009) y en humanos han demostrado una reducción en la ingesta de alcohol (Lukas et al., 2013; Penetar et al., 2015). Sin embargo, no existen datos en humanos que evaluen los posibles efectos de las isoflavonas u otros inhibidores sintéticos.

cos de ALDH2 sobre el consumo de cocaína. En modelos animales, la administración de diferentes isoflavonas ha dado lugar a resultados específicos, como la reducción de recaídas condicionadas por estímulos ambientales y una disminución del consumo repetido (Martin et al., 2021; Yao et al., 2010).

Los enfoques tradicionales basados únicamente en la abstinencia para el tratamiento del trastorno por consumo de sustancias a menudo no logran involucrar a muchas personas que no están preparadas o dispuestas a dejar de consumir sustancias por completo (Paquette, 2022). Al reconocer que la adicción es una condición crónica más que un estado binario, la incorporación de estrategias no orientadas exclusivamente a la abstinencia puede aumentar la participación, la retención y la eficacia del tratamiento al alinearse con los objetivos de los pacientes y centrarse en resultados alternativos, como la reducción del consumo y la mejora de la calidad de vida, en lugar de una abstinencia estricta (Compton y Volkow, 2024; Volkow, 2020).

El objetivo de este estudio es evaluar los efectos de las isoflavonas de soja en pacientes con trastorno por consumo de cocaína.

Material y método

Aprobación ética

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité local de Ética en Investigación Humana (CEIC-Parc de Salut Mar, ref. 2014/5580) y se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki (Fortaleza, 2013) y la legislación local (Ley de Investigación Biomédica, 2007).

Diseño del estudio

Se llevó a cabo un ensayo clínico abierto y unicéntrico de 12 semanas de tratamiento y 4 semanas de seguimiento. Todos los participantes fueron informados sobre el estudio y firmaron un consentimiento escrito antes de participar. Los seleccionados recibieron una compensación económica a través de un programa de incentivos para facilitar la retención y la adherencia. Todos los participantes recibieron el mismo tratamiento y dosis de extractos de isoflavonas de soja (dos cápsulas/12h, ver sección Extracto de Isoflavonas de Soja). La variable principal del estudio fue evaluar los días de consumo de cocaína desde las semanas 10 a 12 del periodo de tratamiento. Esto fue evaluado mediante el porcentaje de días de consumo de cocaína autoinformados por los sujetos y confirmado mediante la detección de metabolitos urinarios de cocaína (benzoilecgonina y éster metílico de ecgonina). Las variables secundarias incluyeron el porcentaje medio de muestras de orina negativas para los metabolitos de cocaína de todas las muestras programadas desde las semanas 5 a 12 del periodo de tratamiento, la retención al tratamiento, la adherencia al tratamiento, la reducción del “craving” y la gravedad del trastorno por consumo de cocaína, y la calidad de vida (ver Instrumentos de Evaluación Clínica).

Extracto de isoflavonas de soja

Se utilizó un producto comercial de extracto de soja (Super-Absorbable Soy Isoflavones®, cápsulas de gelatina dura, Life-Extension, EE.UU.). El preparado se seleccionó basándose en estudios previos farmacocinéticos (Rodríguez-Morató et al., 2015) y de seguridad (Martínez-Riera et al., 2019). Cada cápsula, según el fabricante, estaba compuesta por 54 mg de isoflavonas totales (22 mg de daidzina-daidzeína, 28 mg de genistina-genisteína y 4 mg de glicina-gliciteína). La dosis administrada (cuatro cápsulas/día, dos por la mañana y dos por la noche), fue ajustada para dar un contenido total de daidzina/daidzeína de aproximadamente 88 mg. La dosis seleccionada fue el doble de la recomendada en un estudio previo de isoflavonas para el tratamiento del asma (Smith et al., 2015) y se situó en rangos similares o hasta el doble de los utilizados para el manejo de los síntomas menopáusicos, de acuerdo con la ficha técnica del producto y otros preparados disponibles en el mercado (Carmignani et al., 2010; Khaodhiar et al., 2008; Rebcack et al., 2004; RxList, 2022; Yang et al., 2012), teniendo en cuenta la seguridad de estos niveles de dosificación descrita en estudios previos (Martínez-Riera et al., 2019).

Sujetos

Los participantes, ocho hombres y una mujer, atendidos ambulatoriamente en el Centro de Atención y Seguimiento (CAS) a las drogodependencias, Institut de Neuropsiquiatría i Addiccions, Parc de Salut Mar de Barcelona, España, que presentaban un trastorno por consumo de cocaína, y fueron reclutados de acuerdo con las guías DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013). Cumplieron los siguientes criterios de inclusión: (i) edad \geq 18 años y $<$ 60 años; (ii) búsqueda de tratamiento para el trastorno por consumo de cocaína; (iii) al menos una muestra de orina positiva en las dos semanas previas al inicio de las sesiones del estudio; y (iv) mujeres en edad fértil que utilizaban contraceptivos. Los criterios de exclusión fueron: (i) presentar un trastorno activo por consumo de sustancias (DSM-5) distinto a la cocaína en el año previo excepto tabaco, cannabis y alcohol sin síntomas graves de abstinencia física; (ii) haber estado en tratamiento con un opioide sustitutivo (metadona, buprenorfina) en los 2 meses previos; (iii) presentar una enfermedad neurológica o psiquiátrica grave que pudiera interferir con el desarrollo del estudio; (iv) cualquier condición médica seria que pudiera interferir con la seguridad de los sujetos o con el desarrollo del estudio; (v) VIH, hepatitis, sífilis activa, tuberculosis; (vi) estar bajo un tratamiento obligatorio; (vii) antecedentes personales de cáncer endometrial o de mama u otro cáncer hormonodependiente; (viii) hipersensibilidad a derivados de la soja; (ix) estar bajo tratamiento con derivados de soja por otra razón; (x) haber estado o estar bajo tratamiento con fármacos que pudieran producir síntomas adversos al interactuar con isoflavonas o pudieran interferir con los resultados del estudio; y (xi) estar embarazada o en período de lactancia.

Evaluación clínica

Se recogieron datos sociodemográficos y antecedentes médicos y psiquiátricos.

Días de consumo de cocaína

Para evaluar los días de consumo de cocaína se utilizó el Substance Use Report/Inventory (SUR) (Weiss et al., 1995). Este es un cuestionario autoinformado con un calendario diario que mide el consumo reciente de drogas, dosis y vía de administración. Menos del 20% de días autoinformados de consumo de cocaína se consideró un resultado prometedor. Se recogieron muestras de orina tres veces por semana para cuantificar las concentraciones de metabolitos urinarios de la cocaína. Los valores considerados como ausencia de consumo de cocaína fueron benzoilecgonina < 150 ng/mL y éster metílico de ecgonina < 15 ng/mL. Menos del 20% de muestras de orina positivas se consideró un resultado prometedor.

Retención y adherencia al tratamiento

La retención se midió por el número de sujetos que finalizaron el estudio. La adherencia al tratamiento se evaluó mediante la determinación en orina de daidzeína, genisteína y el metabolito endógeno equol mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tandem (LC/MS/MS) utilizando un método validado (Rodríguez-Morató et al., 2015). Las muestras se recogieron tres veces por semana.

Instrumentos de evaluación clínica

El diagnóstico psiquiátrico se realizó con la Versión Española de la Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders IV (PRISM-IV) (Torrens et al., 2004). Esta es una entrevista semiestructurada diseñada para evaluar trastornos actuales y de por vida del DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000).

Además, se administraron los siguientes instrumentos en sus versiones validadas en español:

- Clinical Global Impression (CGI) (Guy, 1976), una escala heteroaplicada compuesta por dos subescalas CGI-S (mide la gravedad del trastorno) y CGI-I (mide la mejoría del trastorno durante las consultas). Cada una está compuesta por un único ítem puntuado con 8 opciones de respuesta con una escala tipo Likert. Una puntuación CGI-S de 0 representa no evaluado y va de 1 (sujeto sano) a 7 (sujeto extremadamente enfermo); una puntuación CGI-I de 0 representa no evaluado y va de 1 (mejora significativa) a 7 (deterioro muy grave).
- Addiction Severity Index Lite (ASI-lite) (Cacciola et al., 2007), entrevista semiestructurada que evalúa la gravedad de la adicción en varias áreas: médica, psicológica, familiar/social, legal, laboral, de consumo de drogas y de alcohol. Se obtiene información de la vida y datos de los últimos 30 días. Las puntuaciones para cada área van de 0 a 1; cuanto mayor sea la puntuación, mayor será la gravedad del trastorno por consumo.

- Severity Dependence Scale (SDS) (González-Saiz et al., 2008), instrumento autoadministrado que mide la gravedad de la adicción con cinco ítems que se puntuán en una escala tipo Likert con 4 puntos (0-3). La puntuación total es la suma de las puntuaciones en cada ítem. Cuanto mayor es la puntuación mayor es la gravedad del trastorno.
- Cocaine Selective Severity Assessment (CSSA) (Kampran et al., 1998; Pérez de los Cobos et al., 2014), escala heteroaplicada de dieciocho ítems que evalúa la gravedad del trastorno por consumo de cocaína que suele aparecer al suspender repentinamente el consumo de cocaína (p. ej., ansia/“craving”, síntomas depresivos, cambios en el apetito, trastornos del sueño, letargo y bradicardia). Cada ítem se califica mediante una escala Likert de 0 a 7. La puntuación global es la suma de las puntuaciones de cada ítem. A mayor puntuación, mayor gravedad del trastorno por consumo.
- Brief Substance Craving Scale (BSCS) (Somoza et al., 1995), escala autoadministrada que mide la intensidad y frecuencia del “craving” de cocaína y otras sustancias en las últimas veinticuatro horas. Tiene 16 ítems que se puntuán en una escala tipo Likert de 0 a 4. La puntuación global es la suma de las puntuaciones de cada ítem. A mayor puntuación, mayor gravedad del trastorno por consumo.
- SF-36 Health Survey (SF-36) (Alonso et al., 1995), escala autoadministrada que evalúa calidad de vida relacionada con la salud. Mide ocho dimensiones (función física, rol físico, dolor corporal, salud general, vitalidad, función social, rol emocional y salud mental) con una calificación de 0 a 100. Cuanto mayor sea la puntuación, mejor será el nivel de salud.
- Revised Clinical Institute Withdrawal Assessment for Alcohol Scale (CIWA-Ar) (Sullivan et al., 1989), escala heteroaplicada que mide la gravedad del síndrome de abstinencia alcohólica. Consta de diez ítems puntuados en una escala tipo Likert de 0 a 7, con la excepción de un ítem, “orientación y entorpecimiento del sensorio”, que se puntuá de 0 a 4. La puntuación global es la suma de las puntuaciones de cada ítem. A mayor puntuación, mayor gravedad de la abstinencia.
- HIV Risk-Taking Behaviour Scale (HRBS) (Darke et al., 1991), una escala heteroaplicada que evalúa el consumo de drogas intravenosas y las conductas sexuales de riesgo. Consta de once ítems que se puntuán en una escala tipo Likert de 0 a 5. A mayor puntuación, mayor grado de asunción de riesgos.
- Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) (Bobes et al., 2003), escala heteroaplicada que mide la gravedad de la depresión mediante veintiún síntomas. La puntuación global es la suma de las puntuaciones de cada ítem. A mayor puntuación, mayor gravedad de la depresión.

- Columbia Suicide Severity Rating Scale (C-SSRS) (Al-Halabí et al., 2016), escala semiestructurada para evaluar la intensidad del riesgo suicida. Mide cuatro constructos: gravedad de la ideación, intensidad de la ideación, comportamiento y letalidad.

Procedimiento

Durante la sesión de selección, los participantes se sometieron a un examen físico general, un electrocardiograma de 12 derivaciones, análisis completos de sangre y orina (incluyendo drogas de abuso) y un test de embarazo en el caso de mujeres. Además, se administraron las siguientes escalas: PRISM, SUR, SDS, CSSA, BSCS, CIWA-Ar, HAM-D y C-SSRS.

Los sujetos estuvieron 12 semanas en tratamiento y 4 semanas en seguimiento. Se recogieron muestras de orina tres veces por semana durante el estudio. Se tomaron muestras de sangre en las semanas 6, 12 y 16; test de embarazo en el inicio, semana 6 y semana 12; y un ECG de 12 derivaciones en la semana 12. Las escalas CGI, SUR, SDS, CSSA, BSCS y la evaluación de posibles efectos adversos se recogieron en el inicio, semanas 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 16. La escala ASI-lite se administró en el inicio y en la semana 12. SF-36 y HRBS se evaluaron en el inicio, semana 12 y semana 16. Las escalas C-SSRS y HAM-D se administraron en el inicio, semana 4, semana 8, semana 12 y semana 16.

Análisis estadístico

Se realizó una descripción de todas las variables de interés mediante estadística descriptiva (porcentajes, frecuencias y medidas de tendencia central y dispersión). Se realizó un análisis de población por intención de tratar (ITT) para examinar los resultados. Se llevaron a cabo estadísticas inferenciales para evaluar los días de consumo de cocaína autoinformados menores o mayores al 20% desde las semanas 10 a 12 mediante la prueba chi-cuadrado, y para comprobar los cambios absolutos en las puntuaciones de los Instrumentos de Evaluación Clínica durante las semanas del estudio para ASI-lite desde el inicio hasta la semana 12 mediante la prueba T de muestras emparejadas. Se utilizó un ANOVA de medidas repetidas de un factor (factor tiempo) para CGI, SDS, CSSA, BSCS, SF-36 Health Survey, HRBS, HAM-D y C-SSRS, incluyendo los resultados del

inicio, semana 12 y semana 16. Cuando fue significativo, se realizó un análisis “post-hoc” de comparaciones múltiples de Tukey para comparar inicio-semana 12, inicio-semana 16 y semana 12-semana 16. Todas las pruebas estadísticas se realizaron utilizando SPSS Statistics 23.0 (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos). Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo para la prueba chi-cuadrado, la prueba T de muestras emparejadas y el ANOVA de medidas repetidas. El tamaño muestral se calculó para evaluar una eficacia clínica igual o mayor al 20% utilizando el método de Gehan para ensayos clínicos fase II (se recomendaron 9-11 sujetos) (Machin et al., 2009).

Resultados

Características sociodemográficas

Se reclutaron nueve sujetos (ocho hombres y una mujer) con una edad media de $48 \pm 9,27$ años. El peso medio fue de $84,1 \pm 16,19$ kg y el índice de masa corporal de $27,3 \pm 4,4$. Seis (66,7%) sujetos estaban casados, cuatro (44,4%) tenían estudios de primaria, cinco (55,6%) estudios secundarios o superiores, y cuatro (44,4%) estaban empleados en el momento de realizar el estudio (Tabla 1).

Características clínicas

Todos los participantes presentaban trastorno por consumo de cocaína grave según los criterios del DSM-5. La edad media de inicio del trastorno fue de $30,44 \pm 9,28$ años. De los nueve participantes, seis (66,7%) tenían antecedentes de tratamiento por trastorno por consumo de sustancias. Cuatro (44,4%) sujetos tenían antecedentes de trastorno por consumo de alcohol antes del año previo y uno (11,1%) en el año previo. Un participante (11,1%) tenía antecedentes de trastorno por consumo de cannabis antes del año previo y uno (11,1%) en el año previo. Un sujeto (11,1%) tenía antecedentes de trastorno por consumo de opioides pero no en el año previo. Siete de ellos (77,8%) tenían antecedentes familiares de trastornos por consumo de sustancias (Tabla 1).

Los resultados de la entrevista PRISM mostraron que cuatro (44,4%) fueron diagnosticados con un trastorno afectivo en remisión.

Tabla 1

Características sociodemográficas y clínicas de la muestra ($N = 9$)

Características	Media (DE) o n (%)
Características sociodemográficas	
Sexo (hombres/mujeres)	8 (88,9%) / 1 (11,1%)
Edad, M (DE), años	48 (9,27)
Peso, M (DE), kg	84,1 (16,19)
Índice masa corporal, M (DE), kg/m ²	27,3 (4,4)
Estado civil (casados)	6 (66,7%)
Educación — Estudios primarios	4 (44,4%)
Educación — Diplomados-Graduados o superior	5 (55,6%)
Empleo (empeados)	4 (44,4%)

Características	Media (DE) o n (%)
Características clínicas	
Trastorno por consumo cocaína (DSM-5, grave)	9 (100%)
Edad de inicio, M (DE), años	30,44 (9,28)
Tratamientos previos para trastorno por consumo de sustancias	6 (66,7%)
Trastorno consumo alcohol — Previo al año anterior	4 (44,4%)
Trastorno consumo alcohol — En el año previo	1 (11,1%)
Trastorno consumo cannabis — Previo al año anterior	1 (11,1%)
Trastorno consumo cannabis — En el año previo	1 (11,1%)
Trastorno consumo opioides — Previo al año anterior	1 (11,1%)
Historia familiar de trastorno por consumo de sustancias disorders	7 (77,8%)

Notas. M = media; DE = desviación estándar. Porcentajes calculados para una N =9.

Días de consumo de cocaína, retención y adherencia al tratamiento

Días de consumo de cocaína

En cuanto al consumo de cocaína autoinformado, de las semanas 10 a 12, tres sujetos (33,3%) informaron un consumo de cocaína inferior al 20% (80% de días sin consumo), y dos (22,2%) desde el inicio. Sin embargo, estos hallazgos no fueron significativos. Ninguno de los participantes mostró menos del 20% de análisis de orina positivos desde las semanas 10 a 12. El porcentaje medio de muestras de orina negativas para los metabolitos de cocaína de todas las muestras programadas entre las semanas 5 y 12 del periodo de tratamiento fue del 15,8%.

Retención y adherencia al tratamiento

Un total de siete (77,8%) sujetos completaron las 16 semanas del estudio. Uno (11,1%) completó 12 semanas y otro (11,1%) abandonó durante las 4 semanas del estudio. De acuerdo con el análisis cuantitativo urinario de isoflavonas, ocho (88,9%) participantes siguieron el tratamiento durante el estudio, y solo uno (11,1%) no lo hizo (las concentraciones de isoflavonas en orina estaban por debajo del límite de detección).

Otros resultados

Clinical Global Impression (CGI)

No se observaron diferencias a lo largo del estudio para cada participante respecto a los cambios en las puntuaciones de la escala CGI, tanto en la subescala de evaluación de gravedad (CGI-S) como en la de evaluación de mejoría (CGI-I) (Tabla 2).

Addiction Severity Index Lite (ASI-Lite)

No se observaron diferencias durante las semanas del estudio en las puntuaciones de las 7 áreas evaluadas por la escala ASI-Lite.

Severity Dependence Scale (SDS)

La puntuación SDS mostró una disminución estadísticamente significativa entre el inicio y las 12 semanas, entre el inicio y las 16 semanas y entre las semanas 12 y 16 (Tabla 2).

Cocaine Selective Severity Assessment (CSSA)

Los valores en la CSSA disminuyeron aunque sin alcanzar significación estadística (Tabla 2).

Brief Substance Craving Scale (BSCS)

Los valores en la escala BSCS disminuyeron aunque sin alcanzar significación estadística (Tabla 2).

SF-36 Health Survey (SF-36)

En el caso del cuestionario SF-36, se observaron aumentos en las puntuaciones en algunas áreas. Las áreas función física, rol físico, salud general, vitalidad, rol emocional y salud mental aumentaron sus puntuaciones pero no significativamente. Las puntuaciones de dolor corporal disminuyeron desde el inicio a las 12 semanas pero no significativamente; desde el inicio a las 16 semanas la disminución fue estadísticamente significativa, pero aumentaron las puntuaciones de 12 a 16 semanas de forma significativa. El área de función social mejoró sus puntuaciones desde el inicio a las 12 semanas y desde el inicio a las 16 semanas significativamente, y entre 12 y 16 semanas el aumento no fue estadísticamente significativo (Tabla 2).

Otras escalas psiquiátricas

Durante la sesión de selección y a lo largo del estudio, ninguno de los participantes presentó cambios significativos en las puntuaciones de las escalas HRBS, HAM-D y C-SSRS. Durante la sesión de selección los participantes presentaron valores de CIWA-Ar de acuerdo con los criterios de inclusión.

No se observaron efectos adversos secundarios graves a lo largo del estudio.

Discusión

Los resultados de este estudio no permiten realizar una afirmación concluyente sobre la posible eficacia de las isoflavonas de soja como tratamiento del trastorno por consumo de cocaína, porque la variable principal de reducción autoinformada del consumo de cocaína no es estadísticamente significativa y no está confirmada por las determinaciones de orina de metabolitos de cocaína, como medidas objetivas, y otras variables de resultado no son significativas. No

Tabla 2

Puntuaciones absolutas en los instrumentos de evaluación clínica (*n* = 9)

Escala	Basal, M (DE)	12 semanas, M (DE)	16 semanas, M (DE)	ANOVA-1F p valor	Diferencias entre grupos*
<i>CGI</i>					
CGI-S	2,78 (1,64)	2,89 (1,45)	3,33 (1,50)	0,429	NS
CGI-I	3,78 (0,67)	3,67 (2)	3,33 (1,41)	0,415	NS
SDS	12,11 (3,92)	8,11 (4,99)	6,33 (3,74)	< 0,001	a, B, c
CSSA	26,56 (1,93)	25,56 (25,42)	24,78 (17,23)	0,902	NS
BSCS	9,00 (3,50)	7,11 (4,70)	6,56 (3,64)	0,128	NS
<i>SF-36</i>					
Función física	92,78 (8,33)	93,33 (7,91)	96,11 (6,01)	0,132	NS
Rol físico	71,52 (36,39)	72,92 (27,60)	82,64 (22,05)	0,132	NS
Dolor corporal	80 (19,87)	67,78 (31,77)	70,11 (26,79)	0,001	NS, b, C
Salud general	54,44 (20,47)	60,78 (21,02)	69,33 (18,75)	0,220	NS
Vitalidad	41,66 (18,22)	52,77 (21,45)	57,64 (21,60)	0,266	NS
Función social	63,89 (15,86)	66,67 (26,52)	70,83 (25)	0,001	A, b, NS
Rol emocional	60,18 (39,48)	60,18 (32,21)	63,89 (31,73)	0,584	NS
Mental Health	47,78 (20,93)	56,11 (22,88)	61,11 (19,65)	0,16	NS
HRBS	3 (5,24)	1,67 (2,45)	1,78 (2,95)	0,696	NS
HAM-D	3,44 (3,61)	5,78 (5,93)	3,11 (3,51)	0,24	NS
C-SSRS	0	1,22 (3,67)	1,22 (3,67)	0,29	NS

Nota. *M* = media; *DE* = desviación estándar.

Nota. CGI = Clinical Global Impression; CGI-S (measures disorder severity) and CGI-I (measures disorder improvement during the consultations); SDS = Severity Dependence Scale; CSSA = Cocaine Selective Severity Assessment; BSCS = Brief Substance Craving Scale; SF-36 = SF-36 Health Survey; HRBS = HIV Risk-Taking Behaviour Scale; C-SSRS = Columbia Suicide Severity Rating Scale.

Nota. ANOVA-1F = ANOVA de un factor de medidas repetidas (tiempo) NS = diferencias no significativas.

Nota. Diferencias significativas del test de Tukey post-hoc (*p* < ,05) entre condiciones se indican son una "a" (basal-12 semanas), "b" (basal-16 semanas), "c" (12 semanas-16 semanas). Diferencias significativas del test de Tukey post-hoc (*p* < ,01) se indican con una "A" (basal-12 semanas), "B" (basal-16 semanas), "C" (12 semanas-16 semanas).

obstante, nuestros resultados muestran que el tratamiento con isoflavonas de soja podría producir una reducción de los días de consumo de cocaína autoinformados, aunque el aumento en el número de pacientes que informaron un consumo de cocaína inferior al 20% no fue significativo y no fue posible, sin embargo, confirmar esta disminución mediante la detección de metabolitos urinarios de cocaína. La intervención mejoró la retención, dio lugar a una adherencia adecuada, redujo la gravedad del consumo de cocaína y aumentó la calidad de vida de los participantes. El porcentaje de análisis de orina positivos para metabolitos de cocaína que observamos es similar al de otros autores en relación con el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína. Un estudio reciente en pacientes con dependencia concurrente de cocaína y opioides informó una reducción significativa de orinas positivas para cocaína durante 12 semanas de tratamiento con disulfiram frente a placebo, con porcentajes del 79% en la semana 1–2 del estudio al 63% en la semana 11–12 (Kampangkaew et al., 2019). Sin embargo, el porcentaje de positivos al finalizar el estudio no fue inferior al 20% (un valor que se considera un resultado positivo en nuestro estudio), como reportamos desde las semanas 10 a 12. No obstante, cabe destacar que, según el autorregistro del consumo diario, en nuestro estudio tres sujetos (33,3%) declararon un consumo inferior al 20% entre las semanas 10 y 12, y dos desde el inicio, aunque la diferencia no fue significativa. Teniendo en cuenta que los

participantes eran pacientes con un trastorno grave, dicho resultado podría ser un indicador de la reducción de la frecuencia de consumo de cocaína. Una posible razón de que esto no fuera corroborado por los análisis de orina podría deberse al hecho de que estos se realizaron tres veces por semana. Teniendo en cuenta la semivida de eliminación de los metabolitos de la cocaína (6–8 horas para la benzoi-lecgonina y 3–8 horas para el éster metílico de ecgonina) (Farré et al., 1997), algunos días autoinformados como de no consumo podrían haber resultado positivos. Además, las muestras de orina no recogidas se consideraron positivas.

Teniendo en cuenta que todos los participantes presentaban un trastorno grave por consumo de cocaína, las tasas de retención al tratamiento con isoflavonas de soja fueron muy positivas. Siete sujetos (77,8%) completaron el estudio a las 16 semanas y uno (11,1%) lo abandonó a las 12 semanas. Una cifra superior a la encontrada en la literatura, donde habitualmente se citan tasas de retención al tratamiento para el trastorno por consumo de cocaína del 50% (Stotts et al., 2007). El análisis de las concentraciones urinarias de daidzeína, genisteína y equol también proporcionó resultados positivos en cuanto a la buena adherencia al tratamiento con isoflavonas de soja. Ocho (88,9%) de los participantes siguieron una toma correcta. La buena tolerancia de las isoflavonas de soja a lo largo de las semanas del estudio apoya las elevadas tasas de adherencia al tratamiento.

Observamos resultados relevantes que indican que el tratamiento con isoflavonas de soja reduce la gravedad y el “craving” del consumo de cocaína, tal y como se había indicado previamente en estudios con animales (Martín et al., 2021; Yao et al., 2010). Se observó una reducción significativa de las puntuaciones de la escala SDS a lo largo de las semanas del estudio, y una disminución de las puntuaciones de las escalas BSCS y CSSA, aunque sin alcanzar significación estadística. Estudios previos con tratamiento antipsicótico para el trastorno por consumo de cocaína no describieron una reducción en la gravedad del consumo de cocaína con las escalas ASI-lite y CGI (Álvarez et al., 2013) como encontramos en nuestro estudio. Sin embargo, no emplearon otras escalas específicas como la SDS, CSSA y BSCS.

Se obtuvieron datos prometedores en salud global que muestran una mejoría en áreas específicas del cuestionario SF-36 (dolor corporal, función social). Además, los aumentos en otras áreas, aunque no estadísticamente significativos, refuerzan el posible uso del tratamiento con isoflavonas de soja para el trastorno por consumo de cocaína.

Varios estudios con animales han sugerido que las isoflavonas tienen efectos antidepresivos a través de la regulación de la transcripción del BDNF en el cerebro (Lu et al., 2019; Tantipongpiradet et al., 2019). Otros estudios en animales sugieren que el BDNF tiene un papel importante en el trastorno por consumo de cocaína, atenuando durante largo tiempo la recaída en la búsqueda de cocaína (Li y Wolf, 2015; McGinty, 2022). Estos podrían ser otra hipótesis para explicar los posibles efectos de las isoflavonas en el trastorno por consumo de cocaína.

Limitaciones

Se encontraron algunos resultados positivos en este estudio; sin embargo, existen algunas limitaciones. La más importante es el hecho de que se trata de un estudio piloto abierto, y la muestra fue pequeña, lo que limita la potencia estadística y la generalización. La falta de estudios previos en humanos nos llevó a realizar este estudio piloto para evaluar posibles hipótesis sobre el uso de isoflavonas de soja en el trastorno por consumo de cocaína. Para poder realizar una evaluación concluyente de la eficacia de las isoflavonas de soja y teniendo en cuenta que en este ensayo solo tres parámetros mostraron mejorías significativas, debe investigarse una muestra mayor y compararse con una condición control. Aunque, de acuerdo con la semivida de eliminación de los metabolitos de la cocaína, los análisis de orina se realizaron solo tres veces por semana, podría existir la posibilidad de algunos días de consumo no detectados. Las dosis de isoflavonas estuvieron en consonancia con las habitualmente recomendadas para los síntomas climáticos de la menopausia. Desconocemos si dosis más altas podrían proporcionar mejores resultados. Tampoco conocemos el posible efecto de las isoflavonas (daidzeína y

genisteína) cuando se toman por separado, ya que utilizamos un compuesto que las contenía en una combinación fija. Aunque se aconsejó a los pacientes evitar productos de soja, no hubo un control formal de la nutrición basada en soja; por otro lado, al inicio, siete (77,8%) de ellos refirieron no tomar nunca derivados de soja y dos (22,2%) no tomarlos habitualmente. Además, fue criterio de exclusión estar bajo tratamiento con derivados de soja por otra razón. Como solo una mujer participó en el estudio, no se pudieron evaluar posibles diferencias entre sexos.

Conclusiones

Nuestros resultados preliminares sugieren la posible acción del tratamiento con isoflavonas de soja en la reducción de los días de consumo de cocaína. De acuerdo con nuestros resultados, tres sujetos (33,3%) informaron un consumo de cocaína inferior al 20% durante el periodo de 10 a 12 semanas de tratamiento, aunque no se observó abstinencia completa en los análisis de orina.. Los datos también sugieren que el tratamiento con isoflavonas de soja podría mejorar la retención en el tratamiento, reducir la gravedad del trastorno por consumo de cocaína y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Las isoflavonas de soja fueron bien toleradas y se observó una buena adherencia. Sobre la base de estos resultados, se necesitan estudios controlados con placebo y tamaño muestral adecuado para evaluar si las isoflavonas de soja pueden ser eficaces en el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína. Finalmente, basándose en nuestros resultados y en las perspectivas emergentes en el tratamiento de los trastornos por consumo de sustancias, la investigación futura debería considerar estrategias no basadas exclusivamente en la abstinencia como objetivo terapéutico. Estas deberían centrarse en mejorar la retención en el tratamiento, reducir la gravedad del trastorno por consumo de cocaína y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Este estudio representa un paso pionero en la exploración de tratamientos alternativos para el trastorno por consumo de cocaína. Dada la actual falta de opciones terapéuticas efectivas para esta condición, es particularmente relevante seguir investigando los posibles efectos de las isoflavonas en este contexto.

Declaración ética

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Local de Ética en Investigación con Seres Humanos (CEIC-Parc de Salut Mar, ref. 2014/5580) y realizado de acuerdo con la Declaración de Helsinki (Fortaleza, 2013) y las leyes locales (Ley de Investigación Biomédica, 2008). Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos involucrados en el estudio. Este consentimiento incluía la publicación de los resultados, manteniendo la confidencialidad de los datos personales.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Financiado en parte por subvenciones del Ministerio de Sanidad (Investigación Clínica Independiente, número de subvención: EC-10-166); Instituto de Salud Carlos III (ISCIII, Fondo de Investigación en Salud (FIS)-Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER): subvenciones ISCIII-RTA RD16/0017/0003 y RD16/0017/0010, y RD21/0009/0001 y RD21/0009/0004 financiadas por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), y por la Unión Europea NextGenerationEU, Mecanismo para la Recuperación y la Resiliencia (MRR), AGAUR Gencat Suport Grups de Recerca (2017 SGR 316 y 2017 SGR 530). L. Galindo disfrutó de una beca Río Hortega (CM14/00111).

Queremos agradecer las contribuciones iniciales al diseño del estudio de José Carlos Bouso y de Jose Luis Pérez de Heredia.

Referencias

- Al-Halabí, S., Sáiz, P. A., Burón, P., Garrido, M., Benabarre, A., Jiménez, E., Cervilla, J., Navarrete, M. I., Díaz-Mesa, E. M., García-Álvarez, L., Muñiz, J., Posner, K., Oquendo, M. A., García-Portilla, M. P. y Bobes, J. (2016). Validación de la versión en español de la Columbia-Suicide Severity Rating Scale (Escala Columbia para evaluar el riesgo de suicidio). *Revista de Psiquiatría y Salud Mental*, 9(3), 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.rpsm.2016.02.002>
- Alonso, J., Prieto, L. y Antó, J. M. (1995). La versión española del SF-36 Health Survey (Cuestionario de Salud SF-36): Un instrumento para la medida de los resultados clínicos. *Medicina Clínica*, 104(20), 771–776.
- Alvarez, Y., Farré, M., Fonseca, F. y Torrens, M. (2010). Anticonvulsant drugs in cocaine dependence: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 38(1), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2009.07.001>
- Álvarez, Y., Pérez-Mañá, C., Torrens, M. y Farré, M. (2013). Antipsychotic drugs in cocaine dependence: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 45(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2012.12.013>
- American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (4th ed., text rev.). American Psychiatric Publishing.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). American Psychiatric Publishing.
- Amygdala Neurosciences. (n.d.). *Amygdala Neurosciences*. <https://amygns.com/>
- Araos, P., Vergara-Moragues, E., González-Saiz, F., Pedraz, M., García-Marchena, N., Romero-Sanchiz, P., Ruiz, J. J., Campos-Cloute, R., Serrano, A., Pavón, F. J., Torrens, M. y Rodriguez de Fonseca, F. (2017). Differences in the rates of drug polyconsumption and psychiatric comorbidity among patients with cocaine use disorders according to the mental health service. *Journal of Psychoactive Drugs*, 49(4), 306–315. <https://doi.org/10.1080/02791072.2017.1342151>
- Arolfo, M. P., Overstreet, D. H., Yao, L., Fan, P., Lawrence, A. J., Tao, G., Keung, W. M., Vallee, B. L., Olive, M. F., Gass, J. T., Rubin, E., Anni, H., Hodge, C. W., Besheer, J., Zablocki, J., Leung, K., Blackburn, B. K., Lange, L. G. y Diamond, I. (2009). Suppression of heavy drinking and alcohol seeking by a selective ALDH-2 inhibitor. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(11), 1935–1944. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01031.x>
- Ashok, A. H., Mizuno, Y., Volkow, N. D. y Howes, O. D. (2017). Association of stimulant use with dopaminergic alterations in users of cocaine, amphetamine, or methamphetamine. *JAMA Psychiatry*, 74(5), 511–519. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2017.0135>
- Bentley, B. S., Han, S. S., Neuner, S., Humphreys, K., Kampman, K. M. y Halpern, C. H. (2021). Comparison of treatments for cocaine use disorder among adults. *JAMA Network Open*, 4(5), e218049. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.8049>
- Bobes, J., Bulbena, A., Luque, A., Dal-Ré, R., Ballesteros, J., Ibarra, N. y Grupo de Validación en Español de Escalas Psicométricas. (2003). A comparative psychometric study of the Spanish versions with 6, 17, and 21 items of the Hamilton Depression Rating Scale. *Medicina Clínica*, 120(18), 693–700.
- Borroto-Escuela, D. O., Narváez, M., Romero-Fernández, W., Pinton, L., Wydra, K., Filip, M., Beggiato, S., Tanganeli, S., Ferraro, L. y Fuxé, K. (2019). Acute cocaine enhances dopamine D2R recognition and signaling and counteracts D2R internalization in Sigma1R-D2R heteroreceptor complexes. *Molecular Neurobiology*, 56(10), 7045–7055. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1580-8>
- Borroto-Escuela, D. O., Narváez, M., Wydra, K., Pintsuk, J., Pinton, L., Jimenez-Beristain, A., Di Palma, M., Jastrzębska, J., Filip, M. y Fuxé, K. (2017). Cocaine self-administration specifically increases A2AR-D2R and D2R-Sigma1R heteroreceptor complexes in the rat nucleus accumbens shell: Relevance for cocaine use disorder. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 155, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.03.003>
- Borroto-Escuela, D. O., Wydra, K., Filip, M. y Fuxé, K. (2018). A2AR-D2R heteroreceptor complexes in cocaine reward and addiction. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.11.001>

- Sciences*, 39(12), 1008–1020. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.10.007>
- Cacciola, J. S., Alterman, A. I., McLellan, A. T., Lin, Y.-T. y Lynch, K. G. (2007). Initial evidence for the reliability and validity of a “Lite” version of the Addiction Severity Index. *Drug and Alcohol Dependence*, 87(2–3), 297–302. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2006.09.002>
- Camí, J. y Farré, M. (2003). Drug addiction. *The New England Journal of Medicine*, 349(10), 975–986. <https://doi.org/10.1056/NEJMra023160>
- Carmignani, L. O., Pedro, A. O., Costa-Paiva, L. H. y Pinto-Neto, A. M. (2010). The effect of dietary soy supplementation compared to estrogen and placebo on menopausal symptoms: A randomized controlled trial. *Maturitas*, 67(3), 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.07.007>
- Carroll, K. M., Nich, C., Petry, N. M., Eagan, D. A., Shi, J. M. y Ball, S. A. (2016). A randomized factorial trial of disulfiram and contingency management to enhance cognitive behavioral therapy for cocaine dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 160, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.12.036>
- Castells, X., Cunill, R., Pérez-Mañá, C., Vidal, X. y Capellà, D. (2016). Psychostimulant drugs for cocaine dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016(9), CD007380. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007380.pub4>
- Ciccarone, D. y Shoptaw, S. (2022). Understanding stimulant use and use disorders in a new era. *Medical Clinics of North America*, 106(1), 81–97. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2021.08.010>
- Compton, W. M. y Volkow, N. D. (2024). Reductions in substance use as outcome targets for treatment development. *American Journal of Psychiatry*, 181(11), 947–948. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.20240841>
- Darke, S., Hall, W., Heather, N., Ward, J. y Wodak, A. (1991). The reliability and validity of a scale to measure HIV risk-taking behaviour among intravenous drug users. *AIDS*, 5(2), 181–185.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). (2024). *European Drug Report 2024: Trends and developments*. https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024_en
- Farré, M., de la Torre, R., González, M. L., Terán, M. T., Roset, P. N., Menoyo, E. y Camí, J. (1997). Cocaine and alcohol interactions in humans: Neuroendocrine effects and cocaethylene metabolism. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283(1), 164–176.
- Farrell, M., Martin, N. K., Stockings, E., Bórquez, A., Cepeña, J. A., Degenhardt, L., Ali, R., Tran, L. T., Rehm, J., Torrens, M., Shoptaw, S. y McKetin, R. (2019). Responding to global stimulant use: Challenges and opportunities. *The Lancet*, 394(10209), 1652–1667. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32230-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32230-5)
- Fernàndez-Castillo, N., Cabana-Domínguez, J., Corominas, R. y Cormand, B. (2021). Molecular genetics of cocaine use disorders in humans. *Molecular Psychiatry*, 27(1), 624–639. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01256-1>
- Gaval-Cruz, M. y Weinshenker, D. (2009). Mechanisms of disulfiram-induced cocaine abstinence: Antabuse and cocaine relapse. *Molecular Interventions*, 9(4), 175–187. <https://doi.org/10.1124/mi.9.4.6>
- González-Saiz, F., de las Cuevas, C., Barrio, G. y Domingo-Salvany, A. (2008). Spanish version of the Severity of Dependence Scale (SDS). *Medicina Clínica*, 131(20), 797–798.
- Guy, W. (1976). *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology*. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Rockville, MD.
- Hirsiger, S., Hänggi, J., Germann, J., Vonmoos, M., Preller, K. H., Engeli, E. J. E., Kirschner, M., Reinhard, C., Hulka, L. M., Baumgartner, M. R., Chakravarty, M. M., Seifritz, E., Herdener, M. y Quednow, B. B. (2019). Longitudinal changes in cocaine intake and cognition are linked to cortical thickness adaptations in cocaine users. *NeuroImage: Clinical*, 21, 101652. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101652>
- Indave, B. I., Minozzi, S., Pani, P. P. y Amato, L. (2016). Antipsychotic medications for cocaine dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016(6), CD006306. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006306.pub3>
- Kampangkaew, J. P., Spellicy, C. J., Nielsen, E. M., Harding, M. J., Ye, A., Hamon, S. C., Kosten, T. R. y Nielsen, D. A. (2019). Pharmacogenetic role of dopamine transporter (SLC6A3) variation on response to disulfiram treatment for cocaine addiction. *The American Journal of Addictions*, 28(4), 311–317. <https://doi.org/10.1111/ajad.12891>
- Kampman, K. M., Volpicelli, J. R., McGinnis, D. E., Alterman, A. I., Weinrieb, R. M., D'Angelo, L. y Epperson, L. E. (1998). Reliability and validity of the Cocaine Selective Severity Assessment. *Addictive Behaviors*, 23(4), 449–461.
- Kampman, K. M. (2019). The treatment of cocaine use disorder. *Science Advances*, 5(10), eaax1532. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1532>
- Khaodhia, L., Ricciotti, H. A., Li, L., Pan, W., Schickel, M., Zhou, J. y Blackburn, G. L. (2008). Daidzein-rich isoflavone aglycones are potentially effective in reducing hot flashes in menopausal women. *Menopause*, 15(1), 125–132.
- Kohut, S. J. y Bergman, J. (2017). Medication strategies for the management of cocaine use disorder. *The Neuroscience of Cocaine* (pp. 627–637). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803750-8.00063-4>

- Koob, G. F. y Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropharmacology*, 55(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- Koppaka, V., Thompson, D. C., Chen, Y., Ellermann, M., Nicolaou, K. C., Juvonen, R. O., Petersen, D., Deitrich, R. A., Hurley, T. D. y Vasilious, V. (2012). Aldehyde dehydrogenase inhibitors: A comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application. *Pharmacological Reviews*, 64(3), 520–539. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005538>
- Li, X. y Wolf, M. E. (2015). Multiple faces of BDNF in cocaine addiction. *Behavioural Brain Research*, 279, 240–254. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.11.018>
- Lowe, E. D., Gao, G. Y., Johnson, L. N. y Keung, W. M. (2008). Structure of daidzin, a naturally occurring anti-alcohol-addiction agent, in complex with human mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(15), 4482–4487. <https://doi.org/10.1021/jm800488j>
- Lu, L., Liu, Y., Zhu, W., Shi, J., Liu, Y., Ling, W. y Kosten, T. R. (2009). Traditional medicine in the treatment of drug addiction. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 35(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/00952990802455469>
- Lu, Y., Zhu, S., He, Y., Peng, C., Wang, Z. y Tang, Q. (2019). Phytochemical profile and antidepressant effect of *Ormosia henryi* Prain leaf ethanol extract. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3396. <https://doi.org/10.3390/ijms20143396>
- Lukas, S. E., Penetar, D., Su, Z., Geaghan, T., Maywalt, M., Tracy, M., Rodolico, J., Palmer, C., Ma, Z. y Lee, D. Y. W. (2013). A standardized kudzu extract (NPI-031) reduces alcohol consumption in nontreatment-seeking male heavy drinkers. *Psychopharmacology*, 226(1), 65–73. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2884-9>
- Machin, D., Campbell, M. J., Tan, S. B. y Tan, S. H. (2009). *Sample size tables for clinical studies: Chapter 16, Phase II trials*. Wiley-Blackwell. pp. 207–236.
- Martin, M., Gutiérrez-Martos, M., Cabrera, R., Langohr, K., Maldonado, R., Farré, M. y de la Torre, R. (2021). Daidzein modulates cocaine-reinforcing effects and cue-induced cocaine reinstatement in CD-1 male mice. *Psychopharmacology*, 238(7), 1923–1936. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05820-z>
- Martínez-Riera, R., Pérez-Mañá, C., Papaseit, E., Fonseca, F., de la Torre, R., Pizarro, N. y Torrens, M., Farré, M. (2019). Soy isoflavone extract does not increase the intoxicating effects of acute alcohol ingestion in human volunteers. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 131. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00131>
- McGinty, J. F. (2022). BDNF as a therapeutic candidate for cocaine use disorders. *Addiction Neuroscience*, 2, 100006. <https://doi.org/10.1016/j.addn.2022.100006>
- Milton, A. L. y Everitt, B. J. (2012). The persistence of maladaptive memory: Addiction, drug memories and anti-relapse treatments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(4), 1119–1139. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.01.002>
- Minozzi, S., Cinquini, M., Amato, L., Davoli, M., Farrell, M. F., Pani, P. P. y Vecchi, S. (2015). Anticonvulsants for cocaine dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015(10), CD006754. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006754.pub4>
- Overstreet, D. H., Keung, W. M., Rezvani, A. H., Massi, M. y Lee, D. Y. W. (2003). Herbal remedies for alcoholism: Promises and possible pitfalls. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27(2), 177–185. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000051022.26489.CF>
- Pani, P. P., Trogu, E., Vacca, R., Amato, L., Vecchi, S. y Davoli, M. (2010). Disulfiram for the treatment of cocaine dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2010(1), CD007024. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007024.pub2>
- Pani, P. P., Trogu, E., Vecchi, S. y Amato, L. (2011). Antidepressants for cocaine dependence and problematic cocaine use. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011(12), CD002950. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002950.pub3>
- Paquette, C. E., Daughters, S. B. y Witkiewitz, K. (2022). Expanding the continuum of substance use disorder treatment: Nonabstinence approaches. *Clinical Psychology Review*, 91, 102110. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2021.102110>
- Penetar, D. M., MacLean, R. R., McNeil, J. F. y Lukas, S. E. (2011). Kudzu extract treatment does not increase the intoxicating effects of acute alcohol in human volunteers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(4), 726–734. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01390.x>
- Penetar, D. M., Toto, L. H., Lee, D. Y. W. y Lukas, S. E. (2015). A single dose of kudzu extract reduces alcohol consumption in a binge drinking paradigm. *Drug and Alcohol Dependence*, 153, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.05.025>
- Pérez de los Cobos, J., Trujols, J., Siñol, N., Vasconcelos e Rego, L., Iraurgi, I. y Batlle, F. (2014). Psychometric properties of the Spanish version of the Cocaine Selective Severity Assessment to evaluate cocaine withdrawal in treatment-seeking individuals. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 47(3), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2014.05.004>
- Pérez-Mañá, C., Castells, X., Vidal, X., Casas, M. y Capellà, D. (2011). Efficacy of indirect dopamine agonists for psychostimulant dependence: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 40(2), 109–122. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2010.08.012>

- Reback, C. J., Larkins, S. y Shoptaw, S. (2004). Changes in the meaning of sexual risk behaviors among gay and bisexual male methamphetamine abusers before and after drug treatment. *AIDS and Behavior*, 8(1), 87–98. <https://doi.org/10.1023/B:AIBE.0000017528.39338.75>
- Rodríguez-Morató, J., Farré, M., Pérez-Mañá, C., Papseit, E., Martínez-Riera, R., de la Torre, R. y Pizarro, N. (2015). Pharmacokinetic comparison of soy isoflavone extracts in human plasma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31), 6946–6953. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02891>
- RxList. (n.d.). *Soy: Uses and effectiveness*. RxList. <https://www.rxlist.com/soy/supplements.htm#UsesAndEffectiveness>
- Schroeder, J. P., Cooper, D. A., Schank, J. R., Lyle, M. A., Gaval-Cruz, M., Ogbonmwan, Y. E., Pozdnyev, N., Freeman, K. G., Iuvone, P. M., Edwards, G. L., Holmes, P. V. y Weinshenker, D. (2010). Disulfiram attenuates drug-primed reinstatement of cocaine seeking via inhibition of dopamine β-hydroxylase. *Neuropsychopharmacology*, 35(12), 2440–2449. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.127>
- Smith, L. J., Kalhan, R., Wise, R. A., Sugar, E. A., Lima, J. J., Irvin, C. G., Dozor, A. J. y Holbrook, J. T. (2015). Effect of a soy isoflavone supplement on lung function and clinical outcomes in patients with poorly controlled asthma. *JAMA*, 313(20), 2033–2043. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.5024>
- Somoza, E., Dyrenforth, S., Goldsmith, J., Mezinskis, J. y Cohen, M. (1995). In search of a universal drug craving. *Annual Meeting of the American Psychiatric Association*.
- Stotts, A. L., Mooney, M. E., Sayre, S. L., Novy, M., Schmitz, J. M. y Grabowski, J. (2007). Illusory predictors: Generalizability of findings in cocaine treatment retention research. *Addictive Behaviors*, 32(12), 2819–2836. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2007.04.020>
- Sullivan, J. T., Sykora, K., Schneiderman, J., Naranjo, C. A. y Sellers, E. M. (1989). Assessment of alcohol withdrawal: The revised Clinical Institute Withdrawal Assessment for Alcohol scale (CIWA-Ar). *The British Journal of Addiction*, 84(11), 1353–1357.
- Tantipongpiradet, A., Monthakantirat, O., Vipatpakpiboon, O., Khampukdee, C., Umehara, K., Noguchi, H., Fujiwara, H., Matsumoto, K., Sekeroglu, N., Kijjoa, A. y Chulikhit, Y. (2019). Effects of puerarin on the ovariectomy-induced depressive-like behavior in ICR mice and its possible mechanism of action. *Molecules*, 24(24), 4569. <https://doi.org/10.3390/molecules24244569>
- Torreens, M., Martínez-Sanvisens, D., Martínez-Riera, R., Bulbena, A., Szerman, N. y Ruiz, P. (2011). Dual diagnosis. *Addictive Disorders & Their Treatment*, 10(2), 50–59. <https://doi.org/10.1097/ADT.0b013e318215f322>
- Torreens, M., Serrano, D., Astals, M., Pérez-Domínguez, G. y Martín-Santos, R. (2004). Diagnosing comorbid psychiatric disorders in substance abusers: Validity of the Spanish versions of the Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders and the Structured Clinical Interview for DSM-IV. *The American Journal of Psychiatry*, 161(7), 1231–1237. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.7.1231>
- United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). (2024). *World Drug Report 2024*. United Nations.
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Fowler, J. S., Tomasi, D. y Telang, F. (2011). Addiction: Beyond dopamine reward circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(37), 15037–15042. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010654108>
- Volkow, N. D. (2020). Personalizing the treatment of substance use disorders. *American Journal of Psychiatry*, 177(2), 113–116. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2019.19121284>
- Weinshenker, D. (2010). Cocaine sobers up. *Nature Medicine*, 16(9), 969–970. <https://doi.org/10.1038/nm0910-969>
- Weiss, R. D., Hufford, C., Najavits, L. M. y Shaw, S. R. (1995). *Weekly Substance Use Inventory*. Unpublished measure, Harvard Medical School, Boston.
- Yang, T. S., Wang, S. Y., Yang, Y. C., Su, C. H., Lee, F. K., Chen, S. C., Tseng, C. Y., Jou, H. J., Huang, J. P. y Huang, K. E. (2012). Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 51(2), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2012.04.011>
- Yao, L., Fan, P., Arolfo, M., Jiang, Z., Olive, M. F., Zablocki, J., Sun, H., Chu, N., Lee, J., Kim, H., Leung, K., Shryock, J., Blackburn, B. y Diamond, I. (2010). Inhibition of aldehyde dehydrogenase-2 suppresses cocaine seeking by generating THP, a cocaine use-dependent inhibitor of dopamine synthesis. *Nature Medicine*, 16(9), 1024–1028. <https://doi.org/10.1038/nm.2200>

Declaración de disponibilidad de datos

Los conjuntos de datos de este manuscrito no están disponibles públicamente. Las solicitudes de acceso a los conjuntos de datos deben dirigirse a Magi.Farre@uab.cat.



ORIGINAL

Bloqueo del incremento en los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por la derrota social: Efecto de la comida palatable

Blocking the increased reinforcing effects of cocaine induced by social defeat: Effects of palatable food

FRANCISCO RÓDENAS-GONZÁLEZ*, **; MARÍA DEL CARMEN BLANCO-GANDÍA***;
EZEQUIEL MONFERRER*; MARÍA PASCUAL*, ****, *****; MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS*, *****.

* Unidad de Investigación en Psicobiología de la Dependencia a Drogas, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de València, Valencia, España.

** Grupo de Investigación en Psicología y Calidad de Vida (PsiCal), Universidad Internacional Valenciana, Valencia, España.

*** Departamento de Psicología y Sociología, Universidad de Zaragoza, Teruel, España.

**** Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València, Valencia, España.

***** Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), España.

Resumen

Los estudios preclínicos sugieren que la estimulación del sistema de recompensa cerebral mediante dietas ricas en grasa (DRG) podría actuar como un reforzador alternativo. El objetivo principal del presente estudio fue evaluar el efecto de una exposición limitada e intermitente a una DRG, administrada durante y después de la exposición a Derrota Social (DS), sobre una dosis no efectiva de la Preferencia de Lugar Condicionado (PLC) inducida por cocaína. El Experimento 1 consistió en modular los episodios de DS con tres patrones diferentes de acceso a la DRG: acceso de 1 hora antes de cada sesión de DS; acceso de 2 horas tres días a la semana durante las dos semanas de exposición a DS; y acceso de 2 horas, 4 horas después de cada DS. El Experimento 2 consistió en modular los efectos del estrés sobre la adquisición de la PLC con tres patrones de acceso a la DRG: acceso de 1 hora antes de cada sesión de condicionamiento; acceso de 2 horas tres días a la semana durante el período de dos semanas de la PLC; y acceso de 2 horas tres días a la semana desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC. La DRG administrada durante el período de episodios de DS contrarrestó el aumento de la sensibilidad que la DS produce sobre los efectos reforzadores de la cocaína. El acceso a la DRG antes de la sesión de condicionamiento o tres días a la semana (PLC-DS-LXV) durante la adquisición del PLC bloqueó este aumento de sensibilidad. En el estriado, la DS indujo una disminución en la expresión génica del receptor cannabinoido tipo 1 (*Cb1r*), no afectada por la DRG, y un aumento en la expresión del gen del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina (*Crhr1*), excepto en los ratones alimentados con DRG después de los encuentros de DS. Nuestros hallazgos indican que una pequeña ingesta de DRG puede atenuar el aumento inducido por el estrés social en las propiedades reforzantes de la cocaína.

Palabras clave: derrota social, ratones machos, cocaína, dieta rica en grasa

Abstract

Preclinical studies suggest that stimulation of the brain's reward system by high-fat diets (HFD) could act as an alternative reinforcer. The main aim of the present study was to evaluate the effect of a limited and intermittent exposure to an HFD administered during and after exposure to Social Defeat (SD) on a non-effective dose of cocaine-induced Conditioned Place Preference (CPP). Experiment 1 consisted of modulating SD episodes with three different patterns of HFD access: 1h access before each session of SD; 2h access three days a week during the two weeks of SD exposure; and 2h access 4h after each SD. Experiment 2 consisted of modulating the effects of stress on CPP acquisition with three patterns of HFD access: 1h access before each conditioning session; 2h access three days a week throughout the two-week period of the CPP; and 2h access three days a week from the last SD episode to the end of CPP. HFD administered during the period of SD episodes counteracted the increased sensitivity that SD produces on the reinforcing effects of cocaine. Access to HFD before the conditioning session or three days a week (CPP-SD-MWF) during the acquisition of CPP blocked this increased sensitivity. In the striatum, SD induced a decrease in the cannabinoid 1 receptor (*Cb1r*) gene expression, not affected by HFD, and increased corticotrophin releasing hormone receptor 1 (*Crhr1*) gene expression, except for those mice fed on HFD after SD encounters. Our findings indicate that a small intake of HFD may attenuate the social stress-induced increase in the rewarding properties of cocaine.

Key words: social defeat, male mice, cocaine, high-fat diet

■ Recibido: Julio 2025; Aceptado: Octubre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

Enviar correspondencia a:

Dra. Marta Rodríguez-Arias. Unidad de Investigación Psicobiología de las Drogodependencias, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de València, Avda. Blasco Ibáñez, 21, 46010 Valencia, España.
Tlf: + 34 963864637; Fax: + 34 963864668; E-mail: marta.rodriguez@uv.es.

El estrés es ampliamente reconocido como un factor central en el inicio, la progresión y la persistencia de las conductas adictivas (Buchanan y Lovallo, 2019; Burke y Miczek, 2015; Volkow y Blanco, 2023), desempeñando un papel crucial en el estado emocional negativo causado por la dependencia, que conduce tanto a la abstinencia de sustancias (Koob, 2009) como a episodios de recaída (Koob, 2010; Koob y Volkow, 2010). El estrés social destaca como un estresor particularmente significativo en los seres humanos, surgiendo de las relaciones interpersonales y del entorno contextual en el que se desarrollan los individuos (Carnevali et al., 2020; Dickerson y Kemeny, 2004). Dado el profundo impacto físico y psicológico del estrés social en humanos, se han establecido modelos animales, como el paradigma de derrota social (DS), para investigar sus consecuencias neurobiológicas (Miczek et al., 2008; Shimamoto, 2018). Los estudios preclínicos que utilizan el modelo de DS han revelado que la exposición al estrés social produce efectos duraderos (Wang et al., 2021), incluyendo una reducción en la conducta exploratoria y en la interacción social (Burke et al., 2011; Shimizu et al., 2020), un aumento de la ansiedad (Weatherspoon y Cooke, 2012), un incremento del consumo de etanol (Arenas et al., 2025; Reguilón et al., 2020; Reguilón et al., 2021), y una mayor sensibilidad a las propiedades reforzantes condicionadas de psicoestimulantes como la cocaína, tanto en roedores adolescentes (Burke et al., 2016; Burke y Miczek, 2015; Rodríguez-Arias et al., 2018) como adultos (Ballestín et al., 2021; Ferrer-Pérez et al., 2018; Giménez-Gómez et al., 2021; Montagud-Romero et al., 2015; Montagud-Romero, 2016; Rodríguez-Arias et al., 2017).

El estrés también influye en los hábitos nutricionales. Los estudios clínicos indican que los individuos expuestos al estrés tienen más probabilidades de aumentar su consumo de alimentos altamente palatables (Kim et al., 2013; Kontinen, 2020; Linders et al., 2022), debido a sus propiedades de alivio emocional, que ayudan a mitigar el malestar psicológico (Dallman et al., 2003; Gemesi et al., 2022). De hecho, el consumo de dichos alimentos en humanos reduce los niveles plasmáticos de cortisol y la percepción de estrés (Herhaus et al., 2020; Leigh Gibson, 2006). Hallazgos paralelos en modelos animales muestran que los roedores bajo estrés crónico prefieren dietas ricas en grasa (DRG) sobre la dieta estándar (STD) (Packard et al., 2014; Pecoraro et al., 2004), atenuando así respuestas fisiológicas al estrés agudo, como la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA) (Kalyani et al., 2016; Linders et al., 2022; Ulrich-Lai et al., 2011). Cabe destacar que un estudio previo de nuestro grupo demostró que los ratones aislados durante la adolescencia que fueron expuestos intermitentemente a DRG mostraron niveles significativamente menores de corticosterona en comparación con los controles aislados que recibieron únicamente dieta

estándar (Blanco-Gandía et al., 2018), sugiriendo un efecto amortiguador del estrés por parte de la comida palatable.

Por tanto, el estrés social aumenta las propiedades reforzantes tanto de los psicoestimulantes (Montagud-Romero et al., 2015; Peleg-Raibstein et al., 2016) como de las dietas palatables (Kim et al., 2013), potencialmente a través de mecanismos neurobiológicos compartidos. De forma similar a las sustancias adictivas, los alimentos hiper-calóricos ricos en grasa y/o azúcar aumentan los niveles de dopamina en el núcleo accumbens (NAcc) (DiLeone et al., 2012; Pitman y Borgland, 2015), con la activación de varias estructuras clave del sistema de recompensa, como el área tegmental ventral (ATV), la corteza prefrontal y la amígdala (de Macedo et al., 2016; Volkow et al., 2013). Una creciente evidencia sugiere que las intervenciones dietéticas pueden influir en las respuestas a las drogas y en la vulnerabilidad a la adicción. Por ejemplo, la exposición a DRG modula la sensibilidad al alcohol y la cocaína, ya sea potenciando la respuesta de recompensa (Avena et al., 2008; Blanco-Gandía et al., 2017a; Blanco-Gandía et al., 2017b; Puhl et al., 2011) o funcionando como un refuerzo alternativo en estados emocionales negativos inducidos por la abstinencia de drogas (Blanco-Gandía et al., 2017c). De hecho, tanto la administración continua (Blanco-Gandía et al., 2017c) como la intermitente (Ródenas-González et al., 2021) de DRG durante la abstinencia de cocaína facilita el aprendizaje de extinción e inhibe la reinstauración de conductas de búsqueda de cocaína, además de reducir los síntomas conductuales de abstinencia (Loebens y Barros, 2003). Hemos observado previamente que el deterioro inducido por EtOH en la recuperación de la memoria espacial está ausente en ratones expuestos a acceso continuo o intermitente a DRG, aunque los déficits en la memoria aversiva persisten (Del Olmo et al., 2019). En relación con los trastornos por consumo de alcohol, el patrón de exposición a DRG y la condición de estrés parecen ser críticos. Los atracones prolongados o el acceso continuo a DRG durante la adolescencia aumentan los efectos reforzantes de EtOH (Blanco-Gandia et al., 2017b). Sin embargo, un estudio reciente sugiere que el acceso intermitente a DRG previene eficazmente el aumento inducido por el estrés en el consumo de etanol (Arenas et al., 2025). Estos resultados resaltan la estrecha relación entre DRG, estrés y adicción, que interactúan no solo dentro del circuito dopamínérigo y del eje HHA, sino también con los sistemas cannabinoides y opioide (Cristino et al., 2014; Parylak et al., 2012; Sakamoto et al., 2015).

La convergencia de estos tres factores (estrés, consumo de drogas de abuso y hábitos nutricionales) es particularmente crítica durante la adolescencia, un periodo en el cual los cambios estructurales en muchas regiones límbicas y corticales pueden ser alterados por estos factores (Baladi et al., 2012; Daws et al., 2011; Spear, 2000). Durante este periodo, los individuos muestran una sensibilidad reforzada a

la recompensa, lo que los hace más vulnerables a los efectos reforzantes de las drogas (Steinberg, 2010). Sin embargo, la influencia del consumo de comida palatable sobre el aumento de los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por el estrés social en animales adolescentes permanece sin explorar.

Considerando las vías neurobiológicas superpuestas estimuladas por la DRG y las drogas de abuso, y su modulación por los sistemas relacionados con el estrés, planteamos la hipótesis de que la ingesta de DRG puede influir en el desarrollo de la PLC inducida por cocaína en ratones adolescentes, particularmente cuando se utilizan dosis subumbral de cocaína. Para poner a prueba esta hipótesis, nuestro estudio se diseñó para explorar dos aproximaciones diferentes. En el primer experimento, modulamos los episodios de DS con la administración de DRG; en el segundo experimento, después de que los animales hubieran sido expuestos al estrés, la adquisición de la PLC de cocaína fue modulada por la administración de DRG. Los receptores mu opioideos son modulados por la DRG, contribuyendo a los efectos reforzantes y al valor hedónico de la comida palatable (Mahdavi et al., 2023). Hallazgos previos indican una reducción en la expresión del gen del receptor mu opioide en el NAcc tras una administración tipo atracón de DRG (Blanco-Gandia et al., 2017a; Blanco-Gandia et al., 2017b; Martire et al., 2014; Ong et al., 2013), mientras que la exposición continua parece aumentar su expresión (Blanco-Gandia et al., 2017c; Smith et al., 2002). Por otro lado, los receptores CB1 también están implicados en las propiedades reforzantes de la comida palatable, particularmente la DRG (Friuli et al., 2025). Nuestro grupo de investigación informó de una reducción en la expresión génica de CB1r en el NAcc tras la exposición a DRG (Blanco-Gandia et al., 2017a; Blanco-Gandia et al., 2017c). En conjunto, estos hallazgos sugieren que la ingesta de alimentos puede modular no solo los sistemas dopaminérgicos sino también los no dopaminérgicos, incluidos los sistemas cannabinoides y opioide. Dada la implicación de los sistemas opioide y cannabinoides, así como del eje HHA, en el estrés, la adicción y la recompensa de la comida palatable, también evaluamos la expresión génica del receptor mu opioide (*Oprm*), del receptor cannabinoides 1 (*Cb1r*), y del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina (*Crhr1*) en el cuerpo estriado al final de los experimentos.

Material y métodos

Sujetos

Un total de 180 ratones machos de la cepa exogámica OF1 en el DPN 42 fueron adquiridos comercialmente de Charles River (Francia). De estos, 30 animales fueron alojados bajo condiciones estándar de aislamiento y se utilizaron como residentes agresivos durante el procedimiento de De-rota Social (DS). Los 150 ratones experimentales restantes

llegaron al laboratorio en el DPN 21 y fueron alojados en condiciones estándar en grupos de cuatro (tamaño de jaula $28 \times 28 \times 14,5$ cm), a una temperatura constante (21 ± 2 °C), con un ciclo de luz invertido (luz blanca encendida 19:30–7:30) y comida y agua disponibles ad libitum (excepto durante las pruebas conductuales). Todos los procedimientos que involucraron a los ratones y su cuidado cumplieron con las leyes y regulaciones nacionales, regionales y locales, las cuales están de acuerdo con la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2010 sobre la protección de los animales utilizados para fines científicos. El Comité de Uso y Cuidado de Animales de la Universidad de Valencia aprobó el presente estudio (2017/VSC/PEA/00224).

Drogas

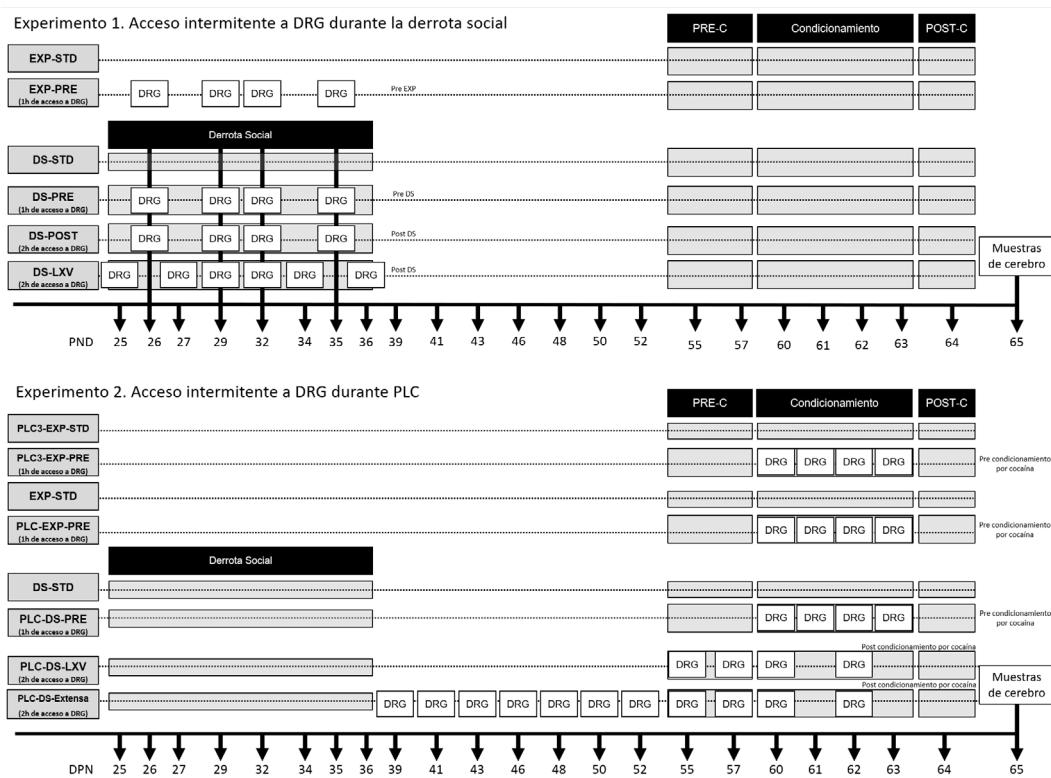
Para la PLC, los animales fueron inyectados i.p. con 1 mg/kg de clorhidrato de cocaína (Laboratorios Alcaliber S. A. Madrid, España) diluido en solución salina fisiológica. La dosis de 1 mg/kg de cocaína utilizada para inducir PLC se basó en estudios previos (Maldonado et al., 2006; Vidal-Infer et al., 2012), donde se demostró que es una dosis subumbral que no es efectiva en animales estándar.

Diseño experimental

Tras 5 días de adaptación en el bioriterio, en el DPN 26, los ratones fueron expuestos a DS, excepto los grupos de exploración (EXP). Después de la última sesión de DS/EXP, los animales permanecieron en el bioriterio durante tres semanas, alojados en sus respectivas jaulas de origen, y posteriormente realizaron la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína (DPN 55). Tras la finalización de todo el procedimiento experimental, los animales fueron eutanasiados para permitir la obtención de muestras biológicas.

En este estudio se llevaron a cabo dos experimentos diferentes: el Experimento 1 consistió en modular los episodios de DS con distintos patrones de acceso a la DRG y el Experimento 2 evaluó cómo diferentes patrones de acceso a la DRG modulaban los efectos del estrés sobre la adquisición de la PLC. En la Figura 1 se proporciona una descripción general y más detallada de los conjuntos de animales y del procedimiento experimental de cada experimento.

En el Experimento 1, los animales experimentales ($n = 76$) fueron expuestos a cuatro episodios de EXP/DS con diferentes administraciones de DRG durante las dos semanas de exposición al estrés. Los ratones fueron divididos aleatoriamente en seis grupos con pesos corporales medios similares (25–26 g) y asignados a los siguientes grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, $n = 12$), EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a DRG antes de cada sesión de exploración, $n = 12$), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar, $n = 15$), DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a DRG antes de cada DS, $n = 14$), DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de

Figura 1**Diseño experimental**

Nota. En el Experimento 1, los ratones se dividieron en seis grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar), EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a DRG antes de cada sesión de exploración), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar), DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a DRG antes de cada DS), DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de DS, accediendo a la DRG después de las sesiones de DS en los días solapados) y DS-POST (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG tras 4 h de un episodio de DS). En el Experimento 2, los ratones se dividieron en ocho grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar), PLC-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar), PLC-DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento), PLC-DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de PLC) y PLC-DS-Extensa (2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes, desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC), PLC3-EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar condicionados con 3 mg/kg de cocaína) y PLC3-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento con 3 mg/kg de cocaína).

acceso a DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de DS, accediendo a la DRG después de la DS en los días coincidentes, $n = 13$) y DS-POST (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG tras 4 h de un episodio de DS, $n = 10$). Tres semanas después del último DS, todos los grupos realizaron la PLC inducida por cocaína.

En el Experimento 2 ($n = 80$), los ratones fueron divididos aleatoriamente en seis grupos con pesos corporales medios similares (25–26 g) y asignados a los siguientes grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, $n = 12$), PLC-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 12$), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar, $n = 15$), PLC-DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 15$), PLC-DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de PLC, $n = 15$) y PLC-DS-Extensa (2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes, desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC, $n = 11$). Para minimizar

el uso innecesario de ratones, los grupos designados como EXP-STD y DS-STD en el Experimento 1 consistieron en los mismos ratones utilizados en el Experimento 2.

Se emplearon dos grupos adicionales de ratones ($n = 21$) para evaluar el efecto de la DRG sobre la PLC inducida por 3 mg/kg de cocaína, denominados PLC3-EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, $n = 11$) y PLC3-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 10$).

Condiciones de alimentación

En el estudio se administraron dos tipos diferentes de dieta. A los grupos control se les proporcionó una dieta estándar (Teklad Global Diet 2014, 13 % Kcal grasa, 67 % Kcal carbohidratos y 20 % Kcal proteína; 2,9 kcal/g; sin azúcares añadidos), y a los grupos de dieta rica en grasa se les administró de manera limitada una dieta rica en grasa (TD.06415, 45 % Kcal grasa, 36 % Kcal carbohidratos y 19 % Kcal proteína; 4,6 kcal/g; el 20 % de los carbohidratos son sacarosa). Ambas dietas fueron suministradas por

Harlan Laboratories Models, S. L. (Barcelona, España) y serán referidas de ahora en adelante como dieta estándar, mientras que el acceso esporádico y limitado a la comida rica en grasa será referido como DRG. La dieta estándar ad libitum y el agua estuvieron siempre disponibles libremente en sus jaulas de origen. Los animales fueron pesados cada semana a lo largo del estudio, y también se midió su ingesta diaria de dieta estándar en su jaula de origen.

Encuentros repetidos de derrota social

Los animales del grupo correspondiente fueron expuestos a cuatro episodios de DS, cada uno con una duración de 25 min. Cada episodio constaba de tres fases, que comenzaban colocando al animal experimental o intruso en la jaula de origen del oponente agresivo o residente durante 10 min. Durante esta fase inicial, el intruso estaba protegido del ataque mediante una pared de malla metálica que permitía la interacción social y la emisión de amenazas típicas de la especie por parte del residente macho agresivo (Covington y Miczek, 2001). En la segunda fase, la malla metálica se retiraba de la jaula y comenzaba un periodo de confrontación de 5 min. En la tercera fase, la malla metálica se volvía a colocar durante 10 min para permitir las amenazas sociales del residente. Los ratones fueron expuestos a DS en los días postnatales (DPNs) 26, 29, 32 y 35. El grupo de exploración (EXP) siguió el mismo protocolo, pero sin la presencia de un ratón residente en la jaula. Tras esta última fase, los animales permanecieron en el bioriterio durante tres semanas, alojados en sus respectivos grupos.

Preferencia de Lugar Condicionado

Para el condicionamiento de lugar, utilizamos 16 cajas idénticas de Plexiglas con dos compartimentos de igual tamaño (30,7 cm largo × 31,5 cm ancho × 34,5 cm alto) separados por un área central gris (13,8 cm largo × 31,5 cm ancho × 34,5 cm alto). Los compartimentos tenían paredes de distinto color (negro vs blanco) y diferentes texturas de suelo (rejilla fina en el compartimento negro y rejilla ancha en el blanco). Cuatro haces de luz infrarroja en cada compartimento de la caja y seis en el área central permitían registrar la posición del animal y los cruces entre compartimentos. El equipo se controlaba mediante dos ordenadores IBM PC utilizando el software MONPRE 2Z (CIBERTEC S.A., España).

Adquisición de la PLC

El procedimiento de condicionamiento de lugar, no sesgado en cuanto a la preferencia espontánea inicial, se realizó según lo descrito previamente (Maldonado et al., 2006) y constó de tres fases. En resumen, en la primera fase, conocida como Pre-Condicionamiento (Pre-C), los ratones en el DPN 55 tuvieron acceso a ambos compartimentos del aparato durante 15 min (900 s) al día durante 3 días. En el día 3, se registró el tiempo pasado en cada compartimento durante un periodo de 900 s, y los animales que mostraron

una fuerte aversión no condicionada (menos del 33% del tiempo de sesión) o preferencia (más del 67%) por algún compartimento fueron excluidos del resto del experimento. Dos animales derrotados con dieta estándar cumplieron estos criterios y fueron excluidos de los grupos DS-STD ($n = 13$) y DS-STD ($n = 13$) de los Experimentos 1 y 2, respectivamente. La mitad de los animales de cada grupo recibió la droga o el vehículo en un compartimento, y la otra mitad en el otro compartimento. Tras asignar los compartimentos, no se detectaron diferencias significativas en el tiempo pasado en los compartimentos asociados a la droga y al vehículo durante la fase de precondicionamiento. En la segunda fase (condicionamiento), que duró 4 días, los animales recibieron una inyección de solución salina fisiológica inmediatamente antes de ser confinados en el compartimento asociado al vehículo durante 30 min. Después de un intervalo de 4 h, recibieron una inyección de cocaína inmediatamente antes de ser confinados en el compartimento asociado a la droga durante 30 min. En ambos casos, el confinamiento se realizó cerrando la puerta tipo guillotina que separaba los dos compartimentos, haciendo inaccesible el área central. En la tercera fase, conocida como post-condicionamiento (Post-C), se retiró la puerta guillotina que separaba los dos compartimentos (día 8) y se registró el tiempo pasado por los ratones no tratados en cada compartimento durante un periodo de observación de 900 s. La diferencia en segundos entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga durante la prueba Post-C y la fase Pre-C es una medida del grado de condicionamiento inducido por la droga. Si esta diferencia es positiva, entonces la droga ha inducido una preferencia por el compartimento asociado a ella, mientras que lo contrario indica que se ha desarrollado una aversión.

Análisis de expresión génica: aislamiento de ARN y RT-PCR cuantitativa

Al final de los experimentos, los animales fueron eutanasiados por dislocación cervical y los cerebros se extrajeron inmediatamente del cráneo y se colocaron sobre una placa fría. El cuerpo estriado fue disecado y las muestras de tejido cerebral se almacenaron inmediatamente a -80 °C hasta que se realizó el ensayo de rt-PCR ($n = 8$ /condición).

El ARN total del cuerpo estriado se aisló utilizando el método Tri Reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), según lo descrito en el protocolo del fabricante. La retrotranscripción de 1 mg de ARN total se realizó utilizando el kit Transcripter First Strand cDNA (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España). La amplificación de los genes diana y de mantenimiento (β -glucuronidasa) se realizó utilizando el Taqman Gene Expression Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España) en un sistema LightCycler 480 (Roche Diagnostics), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los códigos de ensayo de los cebadores utilizados fueron Mm01212171, Mm01188089 y Mm00432670 para

el receptor cannabinoida 1 (*Cb1r*), el receptor opioide μ (*Oprm*) y *Crhr1*, respectivamente. Los datos se analizaron utilizando el software de cuantificación relativa LightCycler 480 y se normalizaron con respecto al producto de amplificación de β -glucuronidasa o Gusb (Mm00446953).

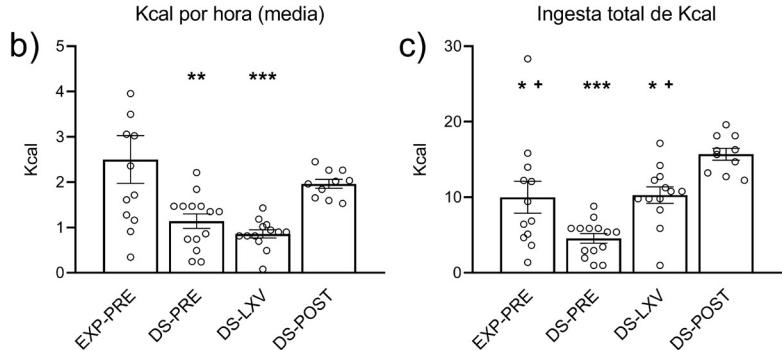
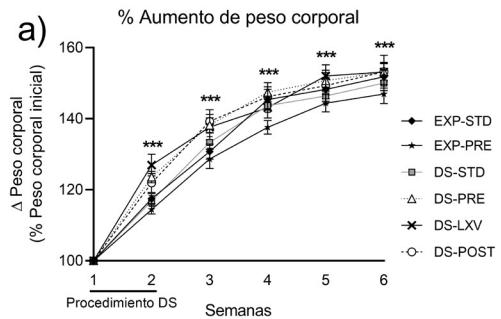
Análisis estadísticos

Los datos relacionados con el porcentaje de aumento de peso corporal se analizaron mediante un ANOVA mixto, con una variable intergrupos -Dieta-, con 6 niveles (EXP-STD, EXP-PRE, DS-STD, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST) para el Experimento 1 y 6 niveles (PLC-EXP, PLC-EXP-PRE, PLC-DS, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa) para el Experimento 2, y una variable intragrupo -Semana-, con 5 niveles. Los datos de la media de la ingesta total de Kcal se analizaron mediante un ANOVA unidireccional con la variable intergrupos -Dieta- (EXP-PRE, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST para el Experimento 1 y PLC-EXP-PRE, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa para el Experimento 2).

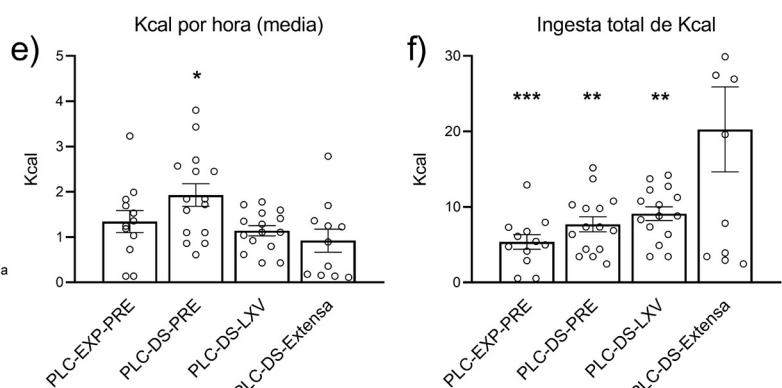
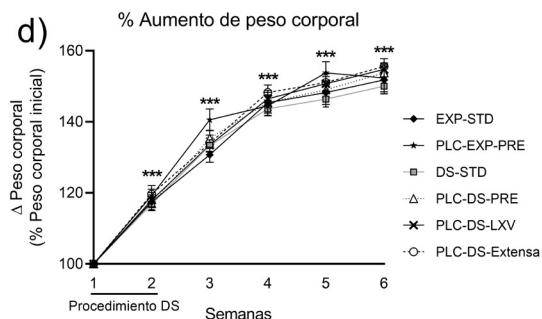
Figura 2

Cambios en el peso corporal y en la ingesta calórica de los ratones durante los Experimentos 1 y 2

Experimento 1



Experimento 2



Nota. (a) % de aumento de peso corporal de los ratones a lo largo de las 6 semanas en el Experimento 1. Los datos se representan como la media (\pm EEM) del % de aumento de peso referido al peso corporal inicial (semana 1). *** $p < .001$ diferencias significativas dentro de cada grupo entre semanas. (b) Kcal por hora Experimento 1. Los datos se representan como la media de Kcal ingeridas por hora (\pm EEM) durante las sesiones de DRG. *** $p < .001$; ** $p < .01$ diferencias significativas con respecto al grupo EXP-PRE. (c) Ingesta total de Kcal Experimento 1. Los datos se representan como la media de Kcal totales (\pm EEM) durante el Experimento 1. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$ con respecto al grupo DS-POST; + $p < .05$ con respecto al grupo DS-PRE. (d) % de aumento de peso corporal de los ratones a lo largo del procedimiento en el Experimento 2. *** $p < .001$ diferencias significativas dentro de cada grupo entre semanas. (e) Kcal por hora Experimento 2. * $p < .05$ diferencia significativa con respecto a los grupos PLC-DS-LXV y PLC-DS-Extensa; (f) Ingesta total de Kcal Experimento 2. ** $p < .01$; *** $p < .001$ con respecto a PLC-DS-Extensa.

significativo un valor $p < 0.05$. Los análisis se realizaron utilizando SPSS v26.

Resultados

Experimento 1. Modulación de los episodios de DS con comida palatable

1.1. Peso corporal y media de Kcal totales ingeridas en las sesiones de DRG.

El ANOVA para el porcentaje de ganancia de peso (Figura 2a) reveló un efecto de la variable Semana ($F(5, 350) = 847,85$, $p < ,001$). El peso corporal aumentó desde la primera semana ($p < ,001$ en todos los casos). El ANOVA de la media de Kcal ingeridas por hora (Figura 2b) reveló diferencias significativas en la variable Dieta ($F(3, 45) = 7,50$, $p < ,001$). Los ratones de los grupos DS-PRE

y DS-LXV consumieron menos Kcal por sesión/hora de DRG que el grupo EXP-PRE ($p < ,01$ y $p < ,001$, respectivamente). Con respecto a la ingesta total de kcal (Figura 2c), el ANOVA también reveló un efecto de la variable Dieta ($F(3, 45) = 12,28$, $p < ,001$). Los ratones del grupo DS-POST consumieron más Kcal que los demás grupos ($p < ,05$ frente a EXP-PRE y DS-LXV y $p < ,001$ frente a DS-PRE). Además, los ratones del grupo DS-PRE ingirieron menos Kcal que los de los grupos EXP-PRE y DS-LXV ($p < ,05$).

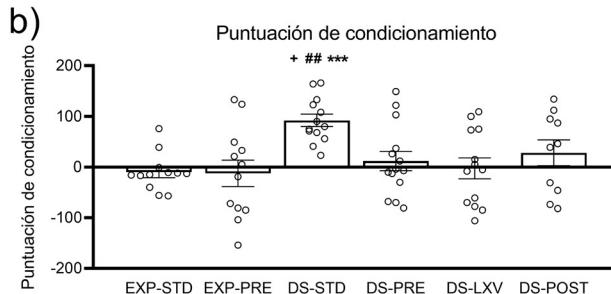
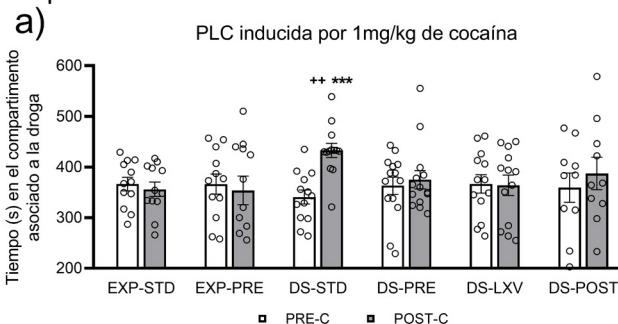
1.2. PLC inducida por cocaína

Los resultados de la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína en el Experimento 1 se muestran en la Figura 3. El ANOVA sobre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga reveló un efecto en la interacción Días × Dieta ($F(3, 68) = 3,39$, $p < ,023$), Días × Estrés ($F(1, 68) = 10,92$, $p < ,002$) y Días × Dieta × Estrés ($F(1, 68) = 4,14$, $p <$

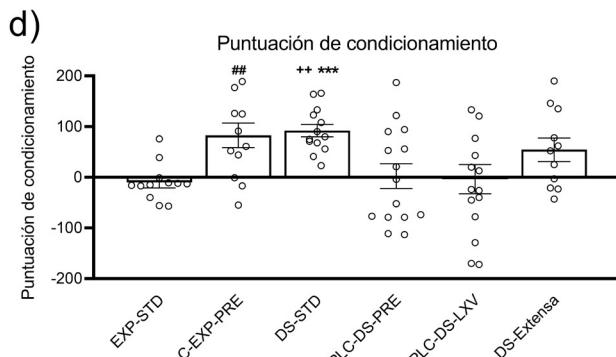
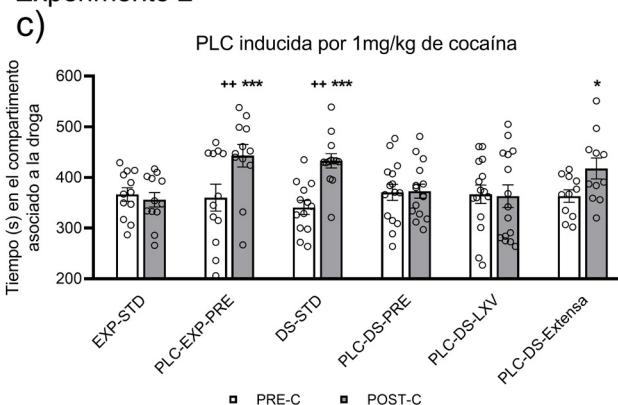
Figura 3

Efectos de la exposición a comida palatable sobre la PLC inducida por cocaína en los Experimentos 1 y 2

Experimento 1



Experimento 2

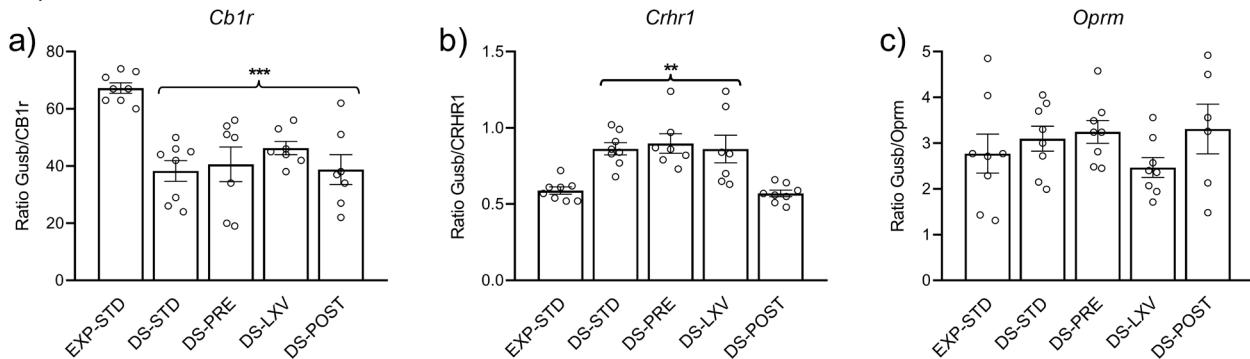


Nota. (a) Efectos de la modulación de los episodios de DS con comida palatable sobre la PLC inducida por cocaína, Experimento 1. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). ++ $p < ,01$ diferencia significativa con respecto al POST-C en el resto de los casos; *** $p < ,001$ diferencia significativa con respecto al PRE-C en el grupo DS-STD. (b) Índice de condicionamiento, Experimento 1. Diferencias en el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al compartimento asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos. + $p < ,05$ diferencias significativas con respecto a DS-PRE; ## $p < ,01$ diferencias significativas con respecto a EXP-STD. (c) Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por cocaína, Experimento 2. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). * $p < ,05$; *** $p < ,001$ diferencia significativa con respecto al PRE-C correspondiente. ++ $p < ,01$ diferencia significativa con respecto al POST-C de los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE. (d) Índice de condicionamiento, Experimento 2. Diferencias entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos. ## $p < ,01$ diferencia significativa con respecto a PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE; ++ $p < ,01$ diferencia significativa con respecto a PLC-DS-PRE y PLC-DS-MWF; *** $p < ,001$ diferencia significativa con respecto a PLC-EXP-STD.

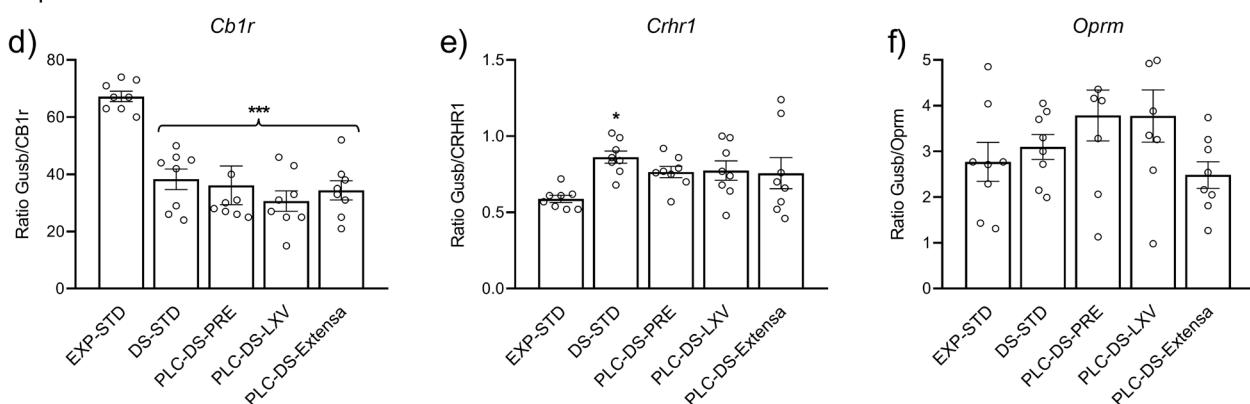
Figura 4

Expresión génica por PCR en tiempo real en el estriado

Experimento 1



Experimento 2



Nota. (n = 8/condición). (a) Receptor cannabinoido 1 - *Cb1r*, Experimento 1: ***p < ,001 diferencias significativas con respecto al grupo EXP-STD. (b) Receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina - *Crhr1*, Experimento 1: **p < ,01 diferencias significativas con respecto a los grupos EXP-STD y DS-POST. (c) Receptor opioide μ - *Oprm*, Experimento 1: Las columnas representan las medias y las líneas verticales \pm EEM de la expresión génica en el estriado de ratones OF1. (d) Receptor cannabinoido 1 - *Cb1r*, Experimento 2: ***p < ,001 diferencias significativas con respecto al grupo PLC-EXP-STD. (e) Receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina - *Crhr1*, Experimento 2: *p < ,05 diferencia significativa con respecto al grupo PLC-EXP-STD. (f) Receptor opioide μ - *Oprm*, Experimento 2: Las columnas representan las medias y las líneas verticales \pm EEM de la expresión génica en el estriado de ratones OF1.

,05). Solo los animales expuestos a DS y alimentados con dieta estándar (DS-STD) pasaron más tiempo en el compartimento asociado a la droga durante POST-C en comparación con PRE-C ($p < ,001$). El tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga durante POST-C por el grupo DS-STD fue significativamente superior al del resto de los grupos ($p < ,01$ en todos los casos).

El ANOVA del índice de condicionamiento reveló un efecto de la interacción Dieta \times Estrés ($F(1, 68) = 4,14$, $p < ,05$). Entre los ratones DS, aquellos alimentados con dieta estándar (DS-STD) presentaron un índice de condicionamiento significativamente mayor que los derrotados pero expuestos a DRG en LXV ($p < ,01$) o antes del test PRE-C ($p < ,05$). El grupo DS-STD también mostró un índice de condicionamiento mayor que el grupo EXP-STD ($p < ,001$).

1.3. Análisis de expresión génica

Para la expresión génica de *Cb1r* (Figura 4a), el ANOVA reveló un efecto significativo de la variable Grupo ($F(4, 32) = 9,74$, $p < ,001$). Todos los ratones expuestos a DS, in-

dependientemente de la dieta, mostraron una disminución significativa en la expresión génica de *Cb1r* en comparación con el grupo EXP-STD ($p < ,001$). Respecto a la expresión de *Crhr1* (Figura 4b), el ANOVA también reveló un efecto significativo de la variable Grupo ($F(4, 33) = 10,08$, $p < ,001$). Los ratones de los grupos DS-STD, DS-PRE y DS-LXV presentaron un aumento significativo de la expresión de *Crhr1* en comparación con los grupos EXP-STD y DS-POST ($p < ,01$ en ambos casos). No se obtuvieron diferencias significativas en la expresión génica del receptor opioide mu (Figura 4c).

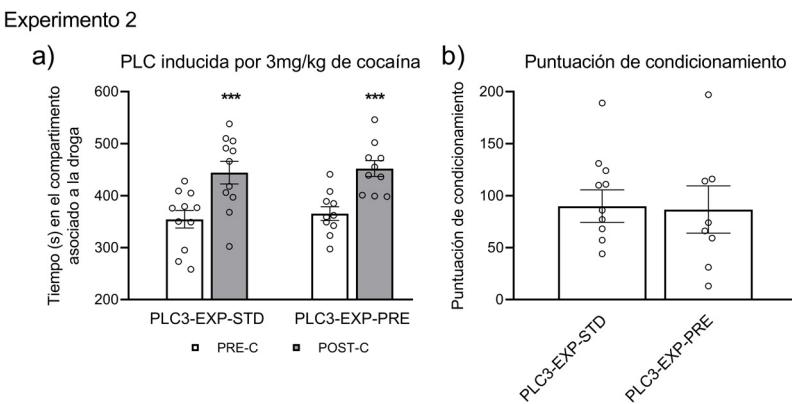
Experimento 2. Modulación del aumento de la PLC inducida por cocaína mediante comida palatable

2.1. Peso corporal y media de Kcal totales ingeridas en las sesiones de DRG.

Como en el primer experimento, el peso corporal aumentó desde el DPN 26 (1^a semana) en adelante (Fi-

Figura 5

Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por 3 mg/kg de cocaína



Nota. (a) Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por cocaína. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). *** $p < .001$ diferencia significativa con respecto a PRE-C. (b) Índice de condicionamiento. Diferencias entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos.

gura 2d). El ANOVA para el porcentaje de aumento de peso reveló un efecto de la variable Semana ($F(5, 370) = 1123,69, p < ,001$). El peso corporal aumentó desde la primera semana ($p < ,001$ en todos los casos). El ANOVA de la media de Kcal ingeridas por hora (Figura 2e) reveló diferencias significativas en la variable Dieta ($F(3, 49) = 4,11, p < ,01$). Los ratones del grupo PLC-DS-PRE consumieron más Kcal por hora de sesión DRG que los grupos PLC-DS-LXV y PLC-DS-Extensa ($p < ,05$). El ANOVA también reveló un efecto de la variable Dieta ($F(3, 49) = 6,18, p < ,001$) respecto a las Kcal totales ingeridas (Figura 2f). Los ratones del grupo PLC-DS-Extensa consumieron más Kcal que los demás grupos ($p < ,001$ frente a PLC-EXP-PRE y $p < ,01$ frente a PLC-DS-PRE y PLC-DS-LXV).

2.2. PLC inducida por cocaína

Los resultados de la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína en el Experimento 2 se presentan en la Figura 3c. El ANOVA del tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga reveló un efecto significativo de la variable Días ($F(1, 72) = 11,60, p < ,001$) y de la interacción Días \times Dieta \times Estrés ($F(1, 72) = 16,34, p < ,001$). Se observó preferencia por 1 mg/kg de cocaína en los grupos PLC-DS-STD ($p < ,001$), PLC-DS-Extensa ($p < ,05$), y en ratones no estresados alimentados con DRG antes del condicionamiento (PLC-EXP-PRE) ($p < ,001$). Además, los grupos DS-STD y PLC-EXP-PRE pasaron más tiempo en el compartimento asociado a la droga durante POST-C que los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE ($p < ,01$ en todos los casos).

El ANOVA para el índice de condicionamiento reveló un efecto de la interacción Dieta \times Estrés ($F(1, 72) = 16,34, p < ,001$) (Figura 3d). Entre los ratones DS, aquellos alimentados con dieta estándar (PLC-DS-STD) presentaron

un índice de condicionamiento significativamente mayor que los ratones no estresados (PLC-EXP-STD) y que los grupos derrotados expuestos a DRG antes del condicionamiento (PLC-DS-PRE) y durante 3 días a la semana (PLC-DS-LXV) ($p < ,001$ para el control y $p < ,01$ para el resto). El grupo no estresado alimentado con DRG antes del condicionamiento (PLC-EXP-PRE) también mostró un índice de condicionamiento mayor que los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE ($p < ,01$ en ambos casos).

Para evaluar más a fondo el efecto de la exposición a DRG antes de la PLC inducida por cocaína, se evaluó el desarrollo de PLC inducida por una dosis efectiva de cocaína (3 mg/kg) (Figura 5). El ANOVA reveló un efecto de la variable Días ($F(1, 19) = 41,88, p < ,001$). Como era de esperar, 3 mg/kg de cocaína indujo una clara preferencia ($p < ,001$), que no se ve afectada por la administración de DRG. El ANOVA del índice de condicionamiento no reveló diferencias entre los grupos ($F(1, 19) = 0,01, p < ,907$).

2.3. Análisis de expresión génica

Para la expresión génica de *Cb1r* (Figura 4d), el ANOVA reveló un efecto significativo de la variable Grupo ($F(4, 35) = 12,65, p < ,001$). Todos los grupos expuestos a DS, independientemente de la dieta, exhibieron una disminución significativa en la expresión génica de *Cb1r* en comparación con el grupo PLC-EXP-STD ($p < ,001$). El ANOVA para la expresión de *Crhr1* (Figura 4e) también reveló un efecto significativo ($F(4, 35) = 2,77, p < ,05$). Los ratones del grupo DS-STD mostraron un aumento significativo en la expresión de *Crhr1* en comparación con el grupo PLC-EXP-STD ($p < ,05$). No se obtuvieron diferencias significativas en la expresión del receptor opioide mu (Figura 4f).

Discusión

El presente trabajo evalúa los efectos moduladores de la DRG sobre el aumento de los efectos condicionados de recompensa inducidos por la cocaína tras el estrés social en dos momentos críticos: a) durante la exposición al estrés DS y b) a largo plazo tras el DS, durante el procedimiento de PLC inducida por cocaína. El presente estudio demostró por primera vez que la ingesta intermitente de DRG bloqueó el aumento a largo plazo de los efectos condicionados de recompensa de la cocaína. El acceso a la DRG durante los episodios de DS (Experimento 1) contrarrestó eficazmente el desarrollo de PLC con una dosis subumbral de cocaína (1 mg/kg). De manera similar, observamos que el acceso a la DRG antes del condicionamiento (PLC-Pre) o durante tres días a la semana (PLC-LXV) durante la adquisición de la PLC (Experimento 2) bloqueó la mayor sensibilidad a los efectos condicionantes de la cocaína inducidos por DS. Sin embargo, una exposición más prolongada a DRG (PLC-DS-Extensa) no produjo este efecto. A pesar de esta coherencia en los resultados, ninguno de los esquemas de DRG fue capaz de contrarrestar la disminución en la expresión génica de *Cb1r*. Sin embargo, el aumento en la expresión del gen *Crhr1* inducido por DS fue reducido por la administración de DRG durante la PLC o tras cada episodio de DS.

Efectos de la DRG sobre el peso corporal y la ingesta de Kcal.

Una observación clave de esta investigación es que el consumo de DRG no resultó en un aumento del peso corporal. Es bien sabido que la ingesta prolongada de DRG se asocia a obesidad, problemas metabólicos y neuroinflamación (Blanco-Gandía et al., 2017c; Li et al., 2022; Tsai et al., 2022). Estudios preclínicos han observado que el acceso ad libitum a una DRG conduce al síndrome metabólico, aumentando la adiposidad y los niveles de leptina, e interfiriendo con las señales de grelina e insulina (Blanco-Gandía et al., 2017c; Davis et al., 2008; Morales et al., 2012). Sin embargo, los regímenes específicos de DRG utilizados en ambos experimentos no produjeron ninguna alteración significativa en el peso corporal, en consonancia con resultados obtenidos en estudios previos con un patrón similar de administración (Blanco-Gandía et al., 2017b; Hudson et al., 2007; Ródenas-González et al., 2021). Sabemos que tras 40 días de exposición intermitente a DRG en LXV, los niveles de leptina no se vieron afectados, aunque la grelina se redujo significativamente (Blanco-Gandía et al., 2017a,b; Blanco-Gandía et al., 2019). En esta línea, el acceso intermitente a DRG no modificó los niveles plasmáticos de glucosa ni de insulina (Del Olmo et al., 2019). Por lo tanto, nuestros resultados actuales y previos sugieren que la exposición intermitente y limitada a DRG no indujo una afectación profunda del metabolismo general.

Respecto a la ingesta de Kcal procedentes de DRG, es importante señalar que, aunque el acceso fue de 1 h en algunos grupos y de 2 h en otros, la cantidad de Kcal ingeridas se mantuvo similar excepto en el grupo con acceso después de DS. En el Experimento 1, el grupo DS-POST mostró un aumento significativo en la ingesta de Kcal comparado con el resto de grupos de tratamiento con DRG. Este grupo tuvo acceso a DRG después de cada episodio de estrés, sugiriendo que este incremento podría deberse a una respuesta compensatoria al estrés, actuando como comfort food. Varios estudios han reportado este mismo fenómeno, donde ratones expuestos a estrés social aumentan posteriormente su ingesta de DRG (Coccurello et al., 2018; Hassan et al., 2019; Sinha y Jastreboff, 2013). Confirmado este efecto, solo los ratones derrotados del grupo DS-POST mostraron una expresión normalizada del gen *Crhr1*. Por tanto, la capacidad de la DRG para bloquear el aumento de PLC inducida por cocaína no está relacionada con la cantidad ingerida, destacando que incluso una cantidad mínima puede ejercer un efecto potente y duradero.

La comida palatable modula el aumento de la recompensa condicionada por cocaína inducida por estrés social

Como era de esperar y en línea con estudios previos, los ratones derrotados alimentados con dieta estándar exhibieron mayor sensibilidad a una dosis subumbral de cocaína, desarrollando PLC por el comportamiento asociado a la droga. Este resultado ha sido descrito en numerosos estudios en los cuales animales expuestos a estrés social muestran mayor vulnerabilidad a los efectos reforzantes de la cocaína evaluados mediante autoadministración intravenosa o PLC inducida por cocaína (Han et al., 2017; Neisewander et al., 2012; Reguilón et al., 2017; Shimamoto, 2018). De forma similar a los resultados presentes, también hemos mostrado anteriormente que ratones derrotados desarrollan PLC utilizando una dosis subumbral de cocaína (Ferrer-Pérez et al., 2019; Giménez-Gómez et al., 2021; Montagud-Romero et al., 2021).

En el Experimento 1, observamos que los grupos derrotados expuestos a los diferentes patrones de administración de DRG durante las dos semanas de encuentros sociales no desarrollaron PLC para la cocaína. Este resultado sugiere que la ingesta de comida palatable puede actuar como un amortiguador de los efectos del estrés (comfort food), como corroboran estudios previos. Por ejemplo, administrar DRG a animales socialmente estresados por aislamiento disminuye los efectos de la cocaína, con una respuesta atenuada de la hiperactividad motora inducida por cocaína (Erhardt et al., 2006), una disminución en la respuesta de corticosterona y un bloqueo en la adquisición de PLC inducida por cocaína (Blanco-Gandía et al., 2018). La DRG podría reducir la actividad del eje HHA (Auvinen et al., 2012; Pecoraro et al., 2004), lo que podría conducir a una

reducción a largo plazo de los efectos reforzantes de la cocaína causados por el estrés, especialmente en la adolescencia, cuando la sensibilidad a la recompensa está aumentada (Blanco-Gandía et al., 2018; Steinberg, 2010).

Los resultados obtenidos en el Experimento 2, donde los animales fueron expuestos a diferentes patrones de administración de DRG durante el procedimiento de PLC, mostraron que todos los grupos DS expuestos a DRG durante la adquisición de PLC no desarrollaron preferencia por la cocaína, excepto el grupo PLC-DS-Extensa. Este grupo inició la exposición a DRG justo después del último episodio de DS y la mantuvo hasta el final de la PLC. A pesar de esta larga exposición, este grupo mostró una sensibilidad aumentada a los efectos reforzantes de la dosis subumbral de cocaína, similar a los animales DS alimentados con dieta estándar. Esto sugiere que cuando la exposición a DRG es prolongada y no contingente con la exposición al estrés o con la adquisición de la PLC, el efecto protector de la comida palatable desaparece. Probablemente, la exposición prolongada a DRG intermitente puede incluso sensibilizar el sistema de recompensa, como sugieren estudios previos (Blanco-Gandía et al., 2017a, 2017b; Puhl et al., 2011). En apoyo de esta hipótesis, sabemos que seis semanas de administración intermitente de DRG aumentan la sensibilidad de ratones adolescentes a una dosis subumbral de cocaína, requiriendo además más tiempo para extinguir la preferencia (Blanco-Gandía et al., 2017b). Sin embargo, también hemos mostrado previamente que la exposición limitada e intermitente a DRG después de adquirir la preferencia por la cocaína bloquea la reinstauración y acelera la extinción en ratones no estresados (Ródenas-González et al., 2021), indicando que el momento de la exposición a DRG es crítico en la modulación del sistema de recompensa. En línea con ello, los resultados presentes indican que cuando la administración intermitente de DRG es contingente y limitada a los días de sesión de PLC, los efectos reforzantes de la cocaína aumentados por estrés social son bloqueados, posiblemente debido a una competencia por la recompensa. Estos hallazgos concuerdan con nuestro reciente informe que sugiere que el efecto protector de la exposición intermitente a DRG puede extenderse a diversas drogas de abuso, como etanol, previniendo potencialmente la susceptibilidad inducida por estrés a diferentes sustancias adictivas (Arenas et al., 2025).

Un efecto interesante observado en este experimento fue que los ratones no estresados expuestos a DRG antes de la adquisición de PLC desarrollaron preferencia por la cocaína. La capacidad de la DRG para inducir preferencia condicionada ha sido descrita previamente (Jarosz et al., 2007; Mizoguchi et al., 2021). A diferencia de estos estudios, nuestro procedimiento de condicionamiento solo requirió cuatro sesiones y la ingesta calórica no estuvo restringida. De hecho, nuestros resultados no demostraron que la DRG por sí sola indujera preferencia condicionada, sino que en

combinación con una dosis no efectiva de cocaína fue capaz de desarrollar preferencia. Este efecto aditivo también fue descrito por Iqbal et al. (2023), quienes observaron que el opiáceo oxicodeona solo desarrollaba preferencia en el compartimento asociado a la DRG.

Cambios en la expresión génica estriatal tras la administración de DRG en ratones socialmente derrotados

Considerando la relevancia de los sistemas cannabinoides y opioide en la adicción y los efectos de la DRG (Barson et al., 2012; Kawahara et al., 2013), así como la importancia crítica del factor liberador de corticotropina en el estrés (Puhl et al., 2011), también exploramos cambios en la expresión génica de *Cb1r*, *Crhr1* y *Oprm* en el estriado al final del procedimiento experimental. Bajo dieta estándar, DS induce una reducción en *Cb1r* y un aumento en la expresión de *Crhr1*, sin cambios en la expresión de *Oprm*. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en la expresión génica en ratones estresados expuestos a DRG intermitente. Los efectos de la administración de DRG en ratones no estresados han sido estudiados previamente (Blanco-Gandía et al., 2017a,b).

El aumento en la expresión de *Crhr1* confirma lo reportado por otros estudios, según los cuales la expresión de *Crhr1* suele aumentar como respuesta al estrés (Logrip et al., 2012). Un aumento en la expresión de *Crhr1* puede incrementar la vulnerabilidad a los efectos de recompensa de la cocaína, dado que se ha demostrado que los antagonistas CRHR1 bloquean este efecto tanto en PLC como en SA (Boyson et al., 2014; Ferrer-Pérez et al., 2018).

Solo cuando se administró después de un episodio de DS (DS-Post), la DRG redujo eficientemente la expresión de *Crhr1* a niveles similares a los del grupo EXP. DS-Post fue el grupo con la mayor ingesta de Kcal por sesión, sugiriendo que el incremento en la ingesta de grasa podría jugar un papel en este efecto. Como se mencionó previamente, existe una tendencia a aumentar la ingesta de comida palatable en roedores expuestos a estrés (Coccurello et al., 2018; Pecoraro et al., 2004; Zellner et al., 2006). Podemos sugerir que la DRG produjo un efecto similar a los antagonistas CRHR1, reduciendo la expresión de *Crhr1* y, consecuentemente, la actividad del eje HHA (Foster et al., 2009; la Fleur et al., 2005; Pecoraro et al., 2004; Ulrich-Lai et al., 2011). Además, otros estudios han demostrado que la DRG puede reducir los niveles de corticosterona en ratones aislados (Blanco-Gandía et al., 2018) o expuestos a estrés por inmovilización (Zeeni et al., 2013). La DRG también reduce otras consecuencias del estrés social, como la evitación social, la ansiedad y la conducta depresiva (MacKay et al., 2017; Maniam y Morris, 2010; Otsuka et al., 2019).

Por otro lado, las intervenciones con DRG durante la adquisición de PLC en el Experimento 2 solo redujeron levemente la expresión de *Crhr1*. Por tanto, aunque se ob-

servó una disminución en los efectos reforzantes condicionados de la cocaína tras todas las administraciones de DRG durante DS, la expresión de *Crhr1* solo fue bloqueada cuando el acceso se proporcionó después de cada episodio de estrés. En el Experimento 2, cuando la DRG se administró a largo plazo tras la exposición al estrés, aunque no se observó un aumento significativo en la expresión de *Crhr1* tras ninguna de las administraciones de DRG, el nivel de expresión de este gen se mantuvo elevado en todos los grupos derrotados, indicando la ausencia de un efecto valioso de la DRG fuera del periodo de estrés.

La señalización opioide está estrechamente asociada con las propiedades reforzantes de la comida y juega un papel clave en la regulación de la palatabilidad (Esch y Stefano, 2024), mientras que el sistema endocannabinoide participa en el control homeostático de la ingesta y proporciona retroalimentación positiva específicamente para la ingesta de alimentos grasos (Koch, 2001). De acuerdo con los datos disponibles, la ingesta intermitente de grasa podría alterar las vías de recompensa a través de la interacción de los sistemas opioide y cannabinoide.

Independientemente de la dieta, todos los grupos expuestos a DS presentaron una disminución en la expresión del gen *Cb1r*, confirmando que DS puede tener efectos a largo plazo sobre el sistema cannabinoide. Estudios previos han demostrado que la señalización CB1 modula la respuesta al estrés (Valverde y Torrens, 2012). Por ejemplo, el estrés crónico se asocia a una reducción en la expresión de *Cb1r* en el hipocampo (Hill et al., 2005; Hu et al., 2011; Reich et al., 2009) y en el estriado (Rossi et al., 2008; Wang et al., 2010). Además, la estimulación de los receptores CB1 reduce efectos inducidos por estrés como la anhedonia (Rademacher y Hillard, 2007), conductas depresivas (Gobbi et al., 2005) y conductas pasivas de afrontamiento del estrés (Steiner et al., 2008).

Nuestros resultados mostraron que la marcada reducción en la expresión de *Cb1r* observada en animales derrotados no se revirtió mediante ninguno de los patrones de administración de DRG en ninguno de los experimentos. En consonancia con esto, estudios previos también han sugerido que la DRG disminuye la expresión de *Cb1r* en el NAcc de roedores adultos (Bello et al., 2012; Martire et al., 2014) y adolescentes (Blanco-Gandía et al., 2017b). El efecto similar del estrés y de la DRG en la expresión de *Cb1r* podría explicar la ausencia de una reversión observable en nuestro estudio.

Finalmente, los resultados de ambos experimentos sugieren que ni el estrés social ni la administración intermitente de DRG causan alteraciones en la expresión del gen *Oprm*. Aunque la implicación del sistema opioide endógeno en las respuestas al estrés (Komatsu et al., 2011) y la ingesta de grasa ha sido documentada (Sakamoto et al., 2015), la literatura existente muestra resultados contradictorios respecto a la expresión de *Oprm*, sugiriendo una regulación

compleja del sistema opioide endógeno. Incrementos en la expresión de *Oprm* se han asociado con ingesta continua de alimentos palatables y de algunas bebidas azucaradas o edulcoradas (Blanco-Gandía et al., 2017a,b; Soto et al., 2015), pero también se ha informado una disminución tras ingesta crónica de DRG en modelos de ratones obesos (Vucetic et al., 2011). Además, una ingesta prolongada pero limitada e intermitente de comida rica en grasa parece reducir la expresión de *Oprm* en el NAcc (Blanco-Gandía et al., 2017a,b). En consecuencia, nuestros resultados podrían deberse a la exposición limitada a DRG en comparación con otros estudios, indicando que las Kcal ingeridas por los ratones en nuestro estudio no fueron suficientes para inducir algún cambio. Estos hallazgos se ven reforzados por investigaciones previas en ratones no estresados expuestos a DRG limitada e intermitente tras adquirir preferencia por cocaína, en los cuales no se observaron cambios en la expresión de *Oprm* en el estriado (Ródenas-González et al., 2021).

Conclusión

Los resultados de este estudio confirmaron que la comida palatable podría ser un buen reforzador alternativo capaz de reducir la adquisición de la preferencia condicionada por cocaína en animales estresados. El periodo específico de administración de DRG parece ser un factor importante a considerar, mientras que la duración de la exposición no fue crítica. De hecho, nuestros resultados sugieren que una exposición prolongada a DRG puede no ser efectiva. La administración breve de una dieta grasa después de DS o durante la adquisición de la preferencia por cocaína puede reducir sus efectos condicionados de refuerzo. Este efecto podría estar mediado por una reducción en el aumento de la expresión génica de *Crhr1*. Estudios futuros deberían abordar otros sistemas relacionados con el estrés y la recompensa para proporcionar una explicación más amplia del efecto positivo de la DRG sobre las consecuencias del estrés social.

Basándonos en nuestros resultados previos y actuales, planteamos la hipótesis de que la administración controlada de DRG podría ser una estrategia útil para mitigar los efectos del estrés social sobre los efectos reforzantes de la cocaína, especialmente cuando esta administración ocurre durante la exposición al estrés o a la cocaína. Considerando la influencia de esta dieta en los circuitos de recompensa y sus efectos cuando se administra durante períodos prolongados, los presentes resultados destacan el potente efecto de una exposición mínima a grasas. La ausencia de un modelo adecuado y validado para estudiar la derrota social en ratas hasta años recientes ha retrasado la implementación de este estudio en hembras. Además, el estudio de otras estructuras cerebrales como el hipotálamo podría aportar más información sobre los mecanismos implicados.

Desde una perspectiva traslacional, nuestros resultados no deben interpretarse como una recomendación de consumo prolongado de DRG. El valor de nuestros hallazgos reside en la posible utilidad de consumir pequeñas cantidades de alimentos altos en grasa durante experiencias de estrés o exposición a cocaína. Es esencial enfatizar que la ingesta de grasa debe proceder predominantemente de fuentes ricas en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Está bien establecido que el consumo de alimentos ricos en grasa, como productos muy procesados y altamente palatables, estimula el sistema de recompensa y aumenta el riesgo de desarrollar adicción a la comida (Ulug et al., 2025). Por tanto, se debe tener una especial precaución al recomendar este tipo de ingesta en pacientes que ya presentan un trastorno por consumo de cocaína. El consumo de dichas dietas debe ser cuidadosamente controlado y debe garantizarse el acceso a una DRG saludable.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por las siguientes subvenciones: PID-2020-112672RB-I00 por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y ERDF A way of making Europe; Instituto de Salud Carlos III, Atención primaria, cronicidad y promoción de la salud, RED DE INVESTIGACIÓN EN ATENCIÓN PRIMARIA DE ADICCIONES (RIAPAd) RD21/0009/0003 y RD23/0003/0004. Generalitat Valenciana, Conselleria de Educación, Dirección General de Universidades, Grupos de Investigación de Excelencia PROMETEO (CIPROM/2021/080).

Conflictos de intereses

Los autores de este artículo declaran no presentar conflictos de interés.

Referencias

- Arenas, M. C., Pérez-Esteban, I., Cañequé-Rufo, H., Gramage, E., Herradón, G. y Rodríguez-Arias, M. (2025). Intermittent and limited exposure to a high-fat diet prevents social defeat-induced increase in ethanol intake and neuroinflammation. *Food & Function*, 16(12), 5133–5150. <https://doi.org/10.1039/D5FO00584A>
- Auvinen, H. E., Romijn, J. A., Biermasz, N. R., Pijl, H., Haavik, L. M., Smit, J. W. A., Rensen, P. C. N. y Pereira, A. M. (2012). The effects of high fat diet on the basal activity of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in mice. *Journal of Endocrinology*, 214(2), 191–197. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0056>
- Avena, N. M., Rada, P. y Hoebel, B. G. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(1), 20–39. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>
- Baladi, M. G., Daws, L. C. y France, C. P. (2012). You are what you eat: Influence of type and amount of food consumed on central dopamine systems and the behavioral effects of direct- and indirect-acting dopamine receptor agonists. *Neuropharmacology*, 63(1), 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.02.005>
- Ballestín, R., Alegre-Zurano, L., Ferrer-Pérez, C., Cantacorps, L., Miñarro, J., Valverde, O. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Neuroinflammatory and behavioral susceptibility profile of mice exposed to social stress towards cocaine effects. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 105, 110123. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110123>
- Barson, J. R., Morganstern, I. y Leibowitz, S. F. (2012). Neurobiology of Consummatory Behavior: Mechanisms Underlying Overeating and Drug Use. *ILAR Journal*, 53(1), 35–58. <https://doi.org/10.1093/ilar.53.1.35>
- Bello, N. T., Coughlin, J. W., Redgrave, G. W., Ladenheim, E. E., Moran, T. H. y Guarda, A. S. (2012). Dietary conditions and highly palatable food access alter rat cannabinoid receptor expression and binding density. *Physiology & Behavior*, 105(3), 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.09.021>
- Blanco-Gandía, M. C., Aracil-Fernández, A., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017c). Changes in gene expression and sensitivity of cocaine reward produced by a continuous fat diet. *Psychopharmacology*, 234(15), 2337–2352. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4630-9>
- Blanco-Gandía, M. C., Cantacorps, L., Aracil-Fernández, A., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Valverde, O., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017a). Effects of bingeing on fat during adolescence on the reinforcing effects of cocaine in adult male mice. *Neuropharmacology*, 113, 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.020>
- Blanco-Gandía, M. C., Ledesma, J. C., Aracil-Fernández, A., Navarrete, F., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017b). The rewarding effects of ethanol are modulated by binge eating of a high-fat diet during adolescence. *Neuropharmacology*, 121, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.04.040>
- Blanco-Gandía, M. C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Behavioral profile of intermittent vs continuous access to a high fat diet during adolescence. *Behavioural Brain Research*, 368, 111891. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.04.005>
- Blanco-Gandía, M. C., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2018). Housing conditions modulate the reinforcing properties of cocaine in adolescent mice that binge on fat. *Physiology*

- Behavior*, 183, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.10.014>
- Boyson, C. O., Holly, E. N., Shimamoto, A., Albrechet-Souza, L., Weiner, L. A., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2014). Social Stress and CRF–Dopamine Interactions in the VTA: Role in Long-Term Escalation of Cocaine Self-Administration. *The Journal of Neuroscience*, 34(19), 6659–6667. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3942-13.2014>
- Buchanan, T. W. y Lovallo, W. R. (2019). The role of genetics in stress effects on health and addiction. *Current Opinion in Psychology*, 27, 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2018.09.005>
- Burke, A. R., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2016). CRF type 1 receptor antagonism in ventral tegmental area of adolescent rats during social defeat: Prevention of escalated cocaine self-administration in adulthood and behavioral adaptations during adolescence. *Psychopharmacology*, 233(14), 2727–2736. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4336-4>
- Burke, A. R. y Miczek, K. A. (2015). Escalation of cocaine self-administration in adulthood after social defeat of adolescent rats: Role of social experience and adaptive coping behavior. *Psychopharmacology*, 232(16), 3067–3079. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3947-5>
- Burke, A. R., Watt, M. J. y Forster, G. L. (2011). Adolescent social defeat increases adult amphetamine conditioned place preference and alters D2 dopamine receptor expression. *Neuroscience*, 197, 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.008>
- Carnevali, L., Montano, N., Tobaldini, E., Thayer, J. F. y Sgoifo, A. (2020). The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 111, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.011>
- Coccurello, R., Romano, A., Giacovazzo, G., Tempesta, B., Fiore, M., Giudetti, A. M., Marrocco, I., Altieri, F., Moles, A. y Gaetani, S. (2018). Increased intake of energy-dense diet and negative energy balance in a mouse model of chronic psychosocial defeat. *European Journal of Nutrition*, 57(4), 1485–1498. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1434-y>
- Covington, H. y Miczek, K. (2001). Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. *Psychopharmacology*, 158(4), 388–398. <https://doi.org/10.1007/s002130100858>
- Cristino, L., Becker, T. y Di Marzo, V. (2014). Endocannabinoids and energy homeostasis: An update. *BioFactors*, 40(4), 389–397. <https://doi.org/10.1002/biof.1168>
- Dallman, M. F., Pecoraro, N., Akana, S. F., la Fleur, S. E., Gomez, F., Houshyar, H., Bell, M. E., Bhatnagar, S., Laufer, K. D. y Manalo, S. (2003). Chronic stress and obesity: A new view of “comfort food.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20), 11696–11701. <https://doi.org/10.1073/pnas.1934666100>
- Davis, J. F., Tracy, A. L., Schurdak, J. D., Tschöp, M. H., Lipton, J. W., Clegg, D. J. y Benoit, S. C. (2008). Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 122(6), 1257–1263. <https://doi.org/10.1037/a0013111>
- Daws, L. C., Avison, M. J., Robertson, S. D., Niswender, K. D., Galli, A. y Saunders, C. (2011). Insulin signaling and addiction. *Neuropharmacology*, 61(7), 1123–1128. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.02.028>
- Del Olmo, N., Blanco-Gandía, M. C., Mateos-García, A., Del Rio, D., Miñarro, J., Ruiz-Gayo, M. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Differential Impact of Ad Libitum or Intermittent High-Fat Diets on Bingeing Ethanol-Mediated Behaviors. *Nutrients*, 11(9), 2253. <https://doi.org/10.3390/nu11092253>
- de Macedo, I. C., de Freitas, J. S. y da Silva Torres, I. L. (2016). The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/7238679>
- Dickerson, S. S. y Kemeny, M. E. (2004). Acute Stressors and Cortisol Responses: A Theoretical Integration and Synthesis of Laboratory Research. *Psychological Bulletin*, 130(3), 355–391. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.3.355>
- DiLeone, R. J., Taylor, J. R. y Picciotto, M. R. (2012). The drive to eat: Comparisons and distinctions between mechanisms of food reward and drug addiction. *Nature Neuroscience*, 15(10), 1330–1335. <https://doi.org/10.1038/nn.3202>
- Erhardt, E., Zibetti, L. C. E., Godinho, J. M., Bacchieri, B. y Barros, H. M. T. (2006). Behavioral changes induced by cocaine in mice are modified by a hyperlipidic diet or recombinant leptin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(12), 1625–1635. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006001200014>
- Esch, T., Stefano, G. B. y Michaelsen, M. M. (2024). The foundations of mind-body medicine: Love, good relationships, and happiness modulate stress and promote health. *Stress and Health*, 40(4). <https://doi.org/10.1002/smj.3387>
- Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2018). Antagonism of corticotropin-releasing factor CRF 1 receptors blocks the enhanced response to cocaine after social stress. *European Journal of Pharmacology*, 823, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.01.052>
- Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., Manzanedo, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Social Housing Conditions Modulate the Long-Lasting Increase in Cocaine Reward Induced by Intermittent Social Defeat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00148>

- Foster, M. T., Warne, J. P., Ginsberg, A. B., Horneman, H. F., Pecoraro, N. C., Akana, S. F. y Dallman, M. F. (2009). Palatable Foods, Stress, and Energy Stores Sculpt Corticotropin-Releasing Factor, Adrenocorticotropin, and Corticosterone Concentrations after Restraint. *Endocrinology*, 150(5), 2325–2333. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1426>
- Friuli, M., Eramo, B., Sepe, C., Kiani, M., Casolini, P. y Zuena, A. R. (2025). The endocannabinoid and para-cannabinoid systems in natural reward processes: Possible pharmacological targets? *Physiology and Behavior*, 296. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2025.114929>
- Gemesi, K., Holzmann, S. L., Kaiser, B., Wintergerst, M., Lurz, M., Groh, G., Böhm, M., Krcmar, H., Gedrich, K., Hauner, H. y Holzapfel, C. (2022). Stress eating: An online survey of eating behaviours, comfort foods, and healthy food substitutes in German adults. *BMC Public Health*, 22(1), 391. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-12787-9>
- Giménez-Gómez, P., Ballestín, R., Gil de Biedma-Elduayen, L., Vidal, R., Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., O’Shea, E., Miñarro, J., Colado, M. I. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Decreased kynurenone pathway potentiate resilience to social defeat effect on cocaine reward. *Neuropharmacology*, 197, 108753. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108753>
- Gobbi, G., Bambico, F. R., Mangieri, R., Bortolato, M., Campolongo, P., Solinas, M., Cassano, T., Morgese, M. G., Debonnel, G., Duranti, A., Tontini, A., Tarzia, G., Mor, M., Trezza, V., Goldberg, S. R., Cuomo, V. y Piomelli, D. (2005). Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(51), 18620–18625. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509591102>
- Han, X., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2017). Prevention and reversal of social stress-escalated cocaine self-administration in mice by intra-VTA CRFR1 antagonism. *Psychopharmacology*, 234(18), 2813–2821. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4676-8>
- Hassan, A. M., Mancano, G., Kashofer, K., Fröhlich, E. E., Matac, A., Mayerhofer, R., Reichmann, F., Olivares, M., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Claus, S. P. y Holzer, P. (2019). High-fat diet induces depression-like behaviour in mice associated with changes in microbiome, neuropeptide Y, and brain metabolome. *Nutritional Neuroscience*, 22(12), 877–893. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1465713>
- Herhaus, B., Ullmann, E., Chrousos, G. y Petrowski, K. (2020). High/low cortisol reactivity and food intake in people with obesity and healthy weight. *Translational Psychiatry*, 10(1), 40. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0729-6>
- Hill, M. N., Patel, S., Carrier, E. J., Rademacher, D. J., Ormerod, B. K., Hillard, C. J. y Gorzalka, B. B. (2005). Downregulation of Endocannabinoid Signaling in the Hippocampus Following Chronic Unpredictable Stress. *Neuropharmacology*, 30(3), 508–515. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300601>
- Hudson, J. I., Hiripi, E., Pope, H. G. y Kessler, R. C. (2007). The Prevalence and Correlates of Eating Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biological Psychiatry*, 61(3), 348–358. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.040>
- Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Zhang, W. y Flügge, G. (2011). Chronic restraint stress impairs endocannabinoid mediated suppression of GABAergic signaling in the hippocampus of adult male rats. *Brain Research Bulletin*, 85(6), 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbul.2011.04.005>
- Iqbal, A., Hamid, A., Ahmad, S. M. y Lutfy, K. (2023). The Role of Mu Opioid Receptors in High Fat Diet-Induced Reward and Potentiation of the Rewarding Effect of Oxycodone. *Life*, 13(3), 619. <https://doi.org/10.3390/life13030619>
- Jarosz, P. A., Kessler, J. T., Sekhon, P. y Coscina, D. V. (2007). Conditioned place preferences (CPPs) to high-caloric “snack foods” in rat strains genetically prone vs. resistant to diet-induced obesity: Resistance to naltrexone blockade. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 699–704. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.02.017>
- Kalyani, M., Hasselfeld, K., Janik, J. M., Callahan, P. y Shi, H. (2016). Effects of High-Fat Diet on Stress Response in Male and Female Wildtype and Prolactin Knockout Mice. *PLOS ONE*, 11(11), e0166416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166416>
- Kawahara, Y., Kaneko, F., Yamada, M., Kishikawa, Y., Kawahara, H. y Nishi, A. (2013). Food reward-sensitive interaction of ghrelin and opioid receptor pathways in mesolimbic dopamine system. *Neuropharmacology*, 67, 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.022>
- Kim, Y., Yang, H. Y., Kim, A.-J. y Lim, Y. (2013). Academic stress levels were positively associated with sweet food consumption among Korean high-school students. *Nutrition*, 29(1), 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.jnut.2012.08.005>
- Koch, J. E. (2001). Δ9-THC stimulates food intake in Lewis rats: effects on chow, high-fat and sweet high-fat diets. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(3), 539–543. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00467-1](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00467-1)
- Komatsu, H., Ohara, A., Sasaki, K., Abe, H., Hattori, H., Hall, F. S., Uhl, G. R. y Sora, I. (2011). Decreased response to social defeat stress in μ-opioid-receptor knockout mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 99(4), 676–682. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.06.008>
- Konttinen, H. (2020). Emotional eating and obesity in adults: The role of depression, sleep and genes. *Proceedings of the*

- Nutrition Society*, 79(3), 283–289. <https://doi.org/10.1017/S0029665120000166>
- Koob, G. F. (2009). Brain stress systems in the amygdala and addiction. *Brain Research*, 1293, 61–75. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.03.038>
- Koob, G. F. (2010). The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Research*, 1314, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.008>
- Koob, G. F. y Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- la Fleur, S. E., Houshyar, H., Roy, M. y Dallman, M. F. (2005). Choice of Lard, But Not Total Lard Calories, Damps Adrenocorticotropin Responses to Restraint. *Endocrinology*, 146(5), 2193–2199. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1603>
- Leigh Gibson, E. (2006). Emotional influences on food choice: Sensory, physiological and psychological pathways. *Physiology & Behavior*, 89(1), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.024>
- Linders, L. E., Patrikiou, L., Soiza-Reilly, M., Schut, E. H. S., van Schaffelaar, B. F., Böger, L., Wolterink-Donselaar, I. G., Luijendijk, M. C. M., Adan, R. A. H. y Meye, F. J. (2022). Stress-driven potentiation of lateral hypothalamic synapses onto ventral tegmental area dopamine neurons causes increased consumption of palatable food. *Nature Communications*, 13(1), 6898. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34625-7>
- Li, Y., Chen, H., Wang, J., Wang, J., Niu, X., Wang, C., Qin, D., Li, F., Wang, Y., Xiong, J., Liu, S., Huang, L., Zhang, X., Gao, F., Gao, D., Fan, M., Xiao, X. y Wang, Z.-H. (2022). Inflammation-activated C/EBP β mediates high-fat diet-induced depression-like behaviors in mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1068164>
- Loebens, M. y Barros, H. M. T. (2003). Diet influences cocaine withdrawal behaviors in the forced swimming test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(2), 259–267. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)00924-3](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)00924-3)
- Logrip, M. L., Zorrilla, E. P. y Koob, G. F. (2012). Stress modulation of drug self-administration: Implications for addiction comorbidity with post-traumatic stress disorder. *Neuropharmacology*, 62(2), 552–564. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.07.007>
- MacKay, J. C., Kent, P., James, J. S., Cayer, C. y Merali, Z. (2017). Ability of palatable food consumption to buffer against the short- and long-term behavioral consequences of social defeat exposure during juvenility in rats. *Physiology & Behavior*, 177, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.04.002>
- Mahdavi, K., Zendehdel, M. y Baghbanzadeh, A. (2023). Central effects of opioidergic system on food intake in birds and mammals: A review. *Veterinary Research Communications*, 47(3), 1103–1114. <https://doi.org/10.1007/S11259-023-10142-W>
- Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Aguilar, M. A. y Miñarro, J. (2006). Gamma-hydroxybutyric acid affects the acquisition and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference in mice. *Behavioural Pharmacology*, 17(2), 119–131. <https://doi.org/10.1097/01.fbp.0000190685.84984.ec>
- Maniam, J. y Morris, M. J. (2010). Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: Role of hippocampus. *Psychoneuroendocrinology*, 35(10), 1553–1564. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.05.012>
- Martire, S. I., Maniam, J., South, T., Holmes, N., Westbrook, R. F. y Morris, M. J. (2014). Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress. *Behavioural Brain Research*, 265, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.02.027>
- Miczek, K., Yap, J. y Covingtoniii, H. (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: Preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacology & Therapeutics*, 120(2), 102–128. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.07.006>
- Mizoguchi, A., Banno, R., Sun, R., Yaginuma, H., Taki, K., Kobayashi, T., Sugiyama, M., Tsunekawa, T., Onoue, T., Takagi, H., Hagiwara, D., Ito, Y., Iwama, S., Suga, H., Nagai, T., Yamada, K. y Arima, H. (2021). Glucocorticoid receptor signaling in ventral tegmental area neurons increases the rewarding value of a high-fat diet in mice. *Scientific Reports*, 11(1), 12873. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92386-7>
- Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Maldonado, C., Manzanedo, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2015). Acute social defeat stress increases the conditioned rewarding effects of cocaine in adult but not in adolescent mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 135, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.05.008>
- Montagud-Romero, S., Reguilón, M. D., Pascual, M., Blanco-Gandía, M. C., Guerri, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Critical role of TLR4 in uncovering the increased rewarding effects of cocaine and ethanol induced by social defeat in male mice. *Neuropharmacology*, 182, 108368. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108368>
- Montagud-Romero, S., Reguilón, M. D., Roger-Sánchez, C., Pascual, M., Aguilar, M. A., Guerri, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2016). Role of dopamine neurotransmission in the long-term effects of repeated social defeat on the conditioned rewarding effects of cocaine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 71, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.07.008>

- Morales, L., Del Olmo, N., Valladolid-Acebes, I., Fole, A., Cano, V., Merino, B., Stucchi, P., Ruggieri, D., López, L., Alguacil, L. F. y Ruiz-Gayo, M. (2012). Shift of Circadian Feeding Pattern by High-Fat Diets Is Coincident with Reward Deficits in Obese Mice. *PLOS ONE*, 7(5), e36139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036139>
- Neisewander, J. L., Peartree, N. A. y Pentkowski, N. S. (2012). Emotional valence and context of social influences on drug abuse-related behavior in animal models of social stress and prosocial interaction. *Psychopharmacology*, 224(1), 33–56. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2853-3>
- Ong, Z. Y., Wanasuria, A. F., Lin, M. Z. P., Hiscock, J. y Muhlhausler, B. S. (2013). Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system. *Appetite*, 65, 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.01.014>
- Otsuka, A., Shiuchi, T., Chikahisa, S., Shimizu, N. y Séi, H. (2019). Sufficient intake of high-fat food attenuates stress-induced social avoidance behavior. *Life Sciences*, 219, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.01.012>
- Packard, A. E. B., Ghosal, S., Herman, J. P., Woods, S. C. y Ulrich-Lai, Y. M. (2014). Chronic variable stress improves glucose tolerance in rats with sucrose-induced prediabetes. *Psychoneuroendocrinology*, 47, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.05.016>
- Parylak, S. L., Cottone, P., Sabino, V., Rice, K. C. y Zorrilla, E. P. (2012). Effects of CB1 and CRF1 receptor antagonists on binge-like eating in rats with limited access to a sweet fat diet: Lack of withdrawal-like responses. *Physiology & Behavior*, 107(2), 231–242. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.06.017>
- Pecoraro, N., Reyes, F., Gomez, F., Bhargava, A. y Dallman, M. F. (2004). Chronic Stress Promotes Palatable Feeding, which Reduces Signs of Stress: Feedforward and Feedback Effects of Chronic Stress. *Endocrinology*, 145(8), 3754–3762. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0305>
- Peleg-Raibstein, D., Sarker, G., Litwan, K., Krämer, S. D., Ametamey, S. M., Schibli, R. y Wolfrum, C. (2016). Enhanced sensitivity to drugs of abuse and palatable foods following maternal overnutrition. *Translational Psychiatry*, 6(10), e911–e911. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.176>
- Pitman, K. A. y Borgland, S. L. (2015). Changes in mu-opioid receptor expression and function in the mesolimbic system after long-term access to a palatable diet. *Pharmacology & Therapeutics*, 154, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.07.005>
- Puhl, M. D., Cason, A. M., Wojnicki, F. H. E., Corwin, R. L. y Grigson, P. S. (2011). A history of bingeing on fat enhances cocaine seeking and taking. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 930–942. <https://doi.org/10.1037/a0025759>
- Rademacher, D. J. y Hillard, C. J. (2007). Interactions between endocannabinoids and stress-induced decreased sensitivity to natural reward. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(3), 633–641. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.12.013>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Pérez, C., Ballestín, R., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2020). Voluntary wheel running protects against the increase in ethanol consumption induced by social stress in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, 212, 108004. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.108004>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Pérez, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Oxytocin reverses ethanol consumption and neuroinflammation induced by social defeat in male mice. *Hormones and Behavior*, 127, 104875. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104875>
- Reguilón, M. D., Montagud-Romero, S., Ferrer-Pérez, C., Roger-Sánchez, C., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017). Dopamine D2 receptors mediate the increase in reinstatement of the conditioned rewarding effects of cocaine induced by acute social defeat. *European Journal of Pharmacology*, 799, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.01.039>
- Reich, C. G., Taylor, M. E. y McCarthy, M. M. (2009). Differential effects of chronic unpredictable stress on hippocampal CB1 receptors in male and female rats. *Behavioural Brain Research*, 203(2), 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.013>
- Ródenas-González, F., Blanco-Gandía, M. del C., Pascual, M., Molari, I., Guerri, C., López, J. M. y Rodríguez-Arias, M. (2021). A limited and intermittent access to a high-fat diet modulates the effects of cocaine-induced reinstatement in the conditioned place preference in male and female mice. *Psychopharmacology*, 238(8), 2091–2103. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05834-7>
- Rodríguez-Arias, M., Montagud-Romero, S., Guardia Carríon, A. M., Ferrer-Pérez, C., Pérez-Villalba, A., Marco, E., López Gallardo, M., Viveros, M.-P. y Miñarro, J. (2018). Social stress during adolescence activates long-term microglia inflammation insult in reward processing nuclei. *PLOS ONE*, 13(10), e0206421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206421>
- Rodríguez-Arias, M., Montagud-Romero, S., Rubio-Araiz, A., Aguilar, M. A., Martín-García, E., Cabrera, R., Maldonado, R., Porcu, F., Colado, M. I. y Miñarro, J. (2017). Effects of repeated social defeat on adolescent mice on cocaine-induced CPP and self-administration in adulthood: Integrity of the blood-brain barrier. *Addiction Biology*, 22(1), 129–141. <https://doi.org/10.1111/adb.12301>
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Kusayanagi, H., Mataluni, G., Bernardi, G., Usiello, A. y Centonze, D. (2008). Chronic Psychoemotional Stress Impairs Cannabinoid-Receptor-Mediated Control of GABA Transmission in the Striatum. *The Journal of Neuroscience*, 28(29), 7284–7292. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5346-07.2008>

- Sakamoto, K., Matsumura, S., Okafuji, Y., Eguchi, A., Yoneda, T., Mizushige, T., Tsuzuki, S., Inoue, K. y Fushiki, T. (2015). The opioid system contributes to the acquisition of reinforcement for dietary fat but is not required for its maintenance. *Physiology & Behavior*, 138, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.001>
- Shimamoto, A. (2018). Social Defeat Stress, Sex, and Addiction-Like Behaviors. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 140, pp. 271–313). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2018.07.009>
- Shimizu, T., Ishida, A., Hagiwara, M., Ueda, Y., Hattori, A., Tajiri, N. y Hida, H. (2020). Social Defeat Stress in Adolescent Mice Induces Depressive-like Behaviors with Reduced Oligodendrogenesis. *Neuroscience*, 443, 218–232. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.002>
- Sinha, R. y Jastreboff, A. M. (2013). Stress as a Common Risk Factor for Obesity and Addiction. *Biological Psychiatry*, 73(9), 827–835. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.032>
- Smith, S. L., Harrold, J. A. y Williams, G. (2002). Diet-induced obesity increases μ opioid receptor binding in specific regions of the rat brain. *Brain Research*, 953(1–2), 215–222. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)03291-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03291-2)
- Soto, M., Chaumontet, C., Even, P. C., Nadkarni, N., Piedcoq, J., Darcel, N., Tomé, D. y Fromentin, G. (2015). Intermittent access to liquid sucrose differentially modulates energy intake and related central pathways in control or high-fat fed mice. *Physiology & Behavior*, 140, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.12.008>
- Spear, L. P. (2000). Neurobehavioral Changes in Adolescence. *Current Directions in Psychological Science*, 9(4), 111–114. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.00072>
- Steinberg, L. (2010). A dual systems model of adolescent risk-taking. *Developmental Psychobiology*, 52(3), 216–224. <https://doi.org/10.1002/dev.20445>
- Steiner, M. A., Wanisch, K., Monory, K., Marsicano, G., Borroni, E., Bächli, H., Holsboer, F., Lutz, B. y Wotjak, C. T. (2008). Impaired cannabinoid receptor type 1 signaling interferes with stress-coping behavior in mice. *The Pharmacogenomics Journal*, 8(3), 196–208. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500466>
- Tsai, S.-F., Hsu, P.-L., Chen, Y.-W., Hossain, M. S., Chen, P.-C., Tzeng, S.-F., Chen, P.-S. y Kuo, Y.-M. (2022). High-fat diet induces depression-like phenotype via astrocyte-mediated hyperactivation of ventral hippocampal glutamatergic afferents to the nucleus accumbens. *Molecular Psychiatry*, 27(11), 4372–4384. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01787-1>
- Ulrich-Lai, Y. M., Ostrander, M. M. y Herman, J. P. (2011). HPA axis dampening by limited sucrose intake: Reward frequency vs. caloric consumption. *Physiology & Behavior*, 103(1), 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.011>
- Ulug, E., Acikgoz Pinar, A. y Yildiz, B. O. (2025). Impact of ultra-processed foods on hedonic and homeostatic appetite regulation: A systematic review. *Appetite*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2025.108139>
- Valverde, O. y Torrens, M. (2012). CB1 receptor-deficient mice as a model for depression. *Neuroscience*, 204, 193–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.031>
- Vidal-Infer, A., Arenas, M. C., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2012). High novelty-seeking predicts greater sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(1), 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.03.031>
- Volkow, N. D. y Blanco, C. (2023). Substance use disorders: A comprehensive update of classification, epidemiology, neurobiology, clinical aspects, treatment and prevention. *World Psychiatry*, 22(2), 203–229. <https://doi.org/10.1002/wps.21073>
- Volkow, N. D., Wang, G. -J., Tomasi, D. y Baler, R. D. (2013). Obesity and addiction: Neurobiological overlaps. *Obesity Reviews*, 14(1), 2–18. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01031.x>
- Vucetic, Z., Kimmel, J. y Reyes, T. M. (2011). Chronic High-Fat Diet Drives Postnatal Epigenetic Regulation of μ -Opioid Receptor in the Brain. *Neuropharmacology*, 56(6), 1199–1206. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.4>
- Wang, W., Liu, W., Duan, D., Bai, H., Wang, Z. y Xing, Y. (2021). Chronic social defeat stress mouse model: Current view on its behavioral deficits and modifications. *Behavioral Neuroscience*, 135(3), 326–335. <https://doi.org/10.1037/bne0000418>
- Wang, W., Sun, D., Pan, B., Roberts, C. J., Sun, X., Hillard, C. J. y Liu, Q. (2010). Deficiency in Endocannabinoid Signaling in the Nucleus Accumbens Induced by Chronic Unpredictable Stress. *Neuropharmacology*, 55(11), 2249–2261. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.99>
- Weatherington, J. M. y Cooke, B. M. (2012). Corticotropin-Releasing Factor Receptor Binding in the Amygdala Changes Across Puberty in a Sex-Specific Manner. *Endocrinology*, 153(12), 5701–5705. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1815>
- Zeeni, N., Daher, C., Fromentin, G., Tome, D., Darcel, N. y Chaumontet, C. (2013). A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress*, 16(2), 211–219. <https://doi.org/10.3109/10253890.2012.708952>
- Zellner, D. A., Loaiza, S., Gonzalez, Z., Pita, J., Morales, J., Pecora, D. y Wolf, A. (2006). Food selection changes under stress. *Physiology & Behavior*, 87(4), 789–793. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.014>



ORIGINAL

Efectos de los ácidos grasos omega-3 sobre la localización del receptor cannabinoidre CB1 en la región CA1 del hipocampo tras la abstinencia de alcohol en ratones machos adolescentes

Effects of omega-3 fatty acids on CB1 cannabinoid receptor localization in the hippocampal CA1 region following alcohol withdrawal in adolescent male mice

MAITANE SERRANO *; LEIRE LEKUNBERRI *; GARAZI OCERIN *; MIQUEL SAUMELL-ESNAOLA****, *****;
GONTZAL GARCÍA DEL CAÑO***, ****, *****; NAGORE PUENTE*, **, ***; ITZIAR BONILLA-DEL RÍO *, **, ***;
INMACULADA GERRIKAGOITIA *, **, ***; PEDRO GRANDES *, **, ***.

* Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Leioa, España.

** Achucarro Basque Center for Neuroscience, Parque Científico de la UPV/EHU, Leioa, España.

*** Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAD), ISCIII, España.

**** Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, España.

***** Bioaraba, Neurofarmacología Celular y Molecular, Vitoria-Gasteiz, España.

***** Departamento de Neurociencias, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, España.

Resumen

El consumo excesivo de alcohol durante la adolescencia compromete la plasticidad sináptica y las funciones cognitivas, en parte debido a la interferencia con el sistema endocannabinoide (SEC) y su receptor CB1. Asimismo, el alcohol impacta negativamente en los ácidos grasos omega-3, esenciales para la integridad de las membranas celulares y la función cerebral. La deficiencia de omega-3 altera la señalización del SEC y la expresión y funcionalidad del CB1, exacerbando el deterioro inducido por el alcohol. Por el contrario, la activación del SEC contribuye a restaurar las funciones sinápticas dependientes de este sistema, afectadas por la falta de omega-3. De hecho, se ha demostrado que la suplementación con omega-3 normaliza la expresión del CB1 en regiones cerebrales específicas de ratones adultos expuestos al alcohol durante la adolescencia.

A pesar de la estrecha relación entre alcohol, omega-3 y SEC, el efecto directo de los omega-3 sobre la localización subcelular del receptor CB1 tras la exposición al alcohol permanece poco explorado. Para abordar esta cuestión, analizamos la región CA1 del hipocampo en ratones machos adultos en abstinencia después de la ingesta de alcohol durante la adolescencia, utilizando inmunocitoquímica para microscopía electrónica. Nuestros resultados indican que los omega-3 ayudan a restablecer el equilibrio entre excitación e inhibición sináptica, alterado por un aumento en el número de terminales excitadoras y una reducción significativa de las inhibitorias. Sin embargo, ni la distribución ni la densidad del receptor CB1 en compartimentos neuronales y gliales se modificaron tras la exposición al alcohol ni con la suplementación con omega-3.

Estos hallazgos revelan efectos estructurales novedosos de los omega-3 en la protección frente al daño cerebral inducido por el alcohol, aportando nuevas perspectivas sobre los mecanismos neuroprotectores de estos ácidos grasos.

Palabras clave: Etanol, adolescencia, sistema endocannabinoide, neuronas, glía, ácidos grasos poliinsaturados, sistema nervioso central

Abstract

Adolescent binge drinking has detrimental effects on brain function, leading to long-lasting impairments in synaptic plasticity, cognition, and behavior. These effects are mediated, in part, by disruption of the endocannabinoid system (ECS) and its cannabinoid type-1 (CB1) receptor. Alcohol consumption also depletes omega-3 fatty acids, which are essential for maintaining cell membrane integrity and supporting brain function. This depletion impairs synaptic plasticity by disrupting endocannabinoid signaling and reducing CB1 receptor expression and function. Conversely, enhancement of the ECS can restore brain function and reverse the loss of endocannabinoid-dependent synaptic plasticity associated with omega-3 deficiency. Notably, omega-3 supplementation has been shown to restore CB1 receptor expression in specific brain regions in adult mice following adolescent alcohol exposure. However, despite the established interplay between alcohol, omega-3, and the ECS, the direct impact of omega-3 supplementation on the subcellular localization of CB1 receptors after alcohol exposure remains poorly understood.

In this study, we used immunoelectron microscopy to investigate whether omega-3 supplementation influences CB1 receptor distribution in the hippocampal CA1 region following alcohol withdrawal in adolescent male mice. Our results demonstrate that omega-3 partially restore the excitatory/inhibitory balance disrupted by alcohol, as evidenced by an increased number of excitatory terminals and a significant reduction in inhibitory terminals. However, the distribution and density of CB1 receptors within neuronal and glial compartments remain unchanged following alcohol exposure and omega-3 supplementation.

These findings highlight novel structural effects of omega-3 in mitigating alcohol-induced brain damage.

Keywords: Ethanol, adolescence, endocannabinoid system, neurons, glia, polyunsaturated fatty acids, central nervous system

■ Recibido: Abril 2025; Aceptado: Julio 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Pedro Grandes, Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 48940 Leioa, España.
Email: pedro.grandes@ehu.eus, tlf: +34 946012875.

Según la encuesta ESTUDES 2025, realizada por el Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad, 2025), los adolescentes constituyen un grupo demográfico crítico en los patrones de consumo de alcohol, especialmente en lo referente al consumo intensivo episódico (*binge drinking* o consumo en atracón). Casi el 25% de los jóvenes de entre 14 y 18 años declaró haber participado en episodios de *binge drinking* en los 30 días previos a la encuesta. La prevalencia de este patrón es mayor en los varones (26,1%) que en las mujeres (23,3%), aunque en ambos sexos se ha observado un descenso significativo respecto a la encuesta de 2023, siendo esta disminución más pronunciada en las mujeres.

El consumo en atracón durante la adolescencia tiene repercusiones importantes para el desarrollo cerebral. Este periodo se caracteriza por una intensa remodelación neurobiológica, con cambios en la neurotransmisión, la plasticidad sináptica y la maduración estructural, particularmente en regiones cerebrales relacionadas con el aprendizaje, la memoria y la función ejecutiva. En consecuencia, la ingesta de alcohol durante esta ventana del desarrollo puede generar alteraciones duraderas y potencialmente irreversibles en la función cerebral, afectando la transmisión sináptica y la neuroplasticidad, lo que finalmente se traduce en déficits cognitivos, emocionales y motores (Abrahao et al., 2017; Cserveska y Brumback, 2017; Kang et al., 2024; Keshavan et al., 2014; Lovinger y Abrahao, 2018; Lovinger y Alvarez, 2017; Lovinger y Roberto, 2013; Pava y Woodward, 2012; Vetrone y Crews, 2015).

Las evidencias señalan la participación del sistema endocannabinoide (SEC) en la mediación de los efectos del alcohol sobre la función sináptica tanto en la exposición aguda como en la ingesta crónica y la abstinencia. El SEC desempeña un papel fundamental en la regulación de la motivación y el consumo de alcohol y es reconocido cada vez más como un elemento clave en la fisiopatología del trastorno por consumo de alcohol (TCA) (Gonzalez et al., 2002; Kunos, 2020; Navarrete et al., 2022; Peñasco et al., 2020; Sanchez-Marin et al., 2022; Vinod et al., 2006). Este sistema incluye receptores cannabinoides acoplados a proteínas G —principalmente CB1 y CB2—, los endocannabinoides 2-araquidonilglicerol (2-AG) y anandamida (AEA), así como la maquinaria enzimática encargada de su síntesis, degradación y transporte (Lu y Mackie, 2021).

Numerosos estudios han demostrado que la exposición crónica al alcohol reduce la expresión del ARNm y los niveles proteicos del receptor CB1, afectando a su densidad y función (Basavarajappa et al., 1998; Ortiz et al., 2004; Vinod et al., 2006). En humanos, el consumo crónico e intenso se asocia con una menor disponibilidad del receptor CB1 en varias regiones cerebrales, un efecto que a menudo persiste más allá de los periodos de abstinencia (Ceccarini et al., 2014; Hirvonen et al., 2013; Wolfe et al., 2022). Por el contrario, la eliminación genética o el antagonismo far-

macológico del receptor CB1 reduce la ingesta de alcohol, reforzando así su implicación en las conductas relacionadas con esta sustancia (Maccioni et al., 2010).

Aunque las intervenciones farmacológicas muestran un notable potencial para abordar la disfunción cognitiva inducida por el alcohol, las estrategias nutricionales, como la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFAs), están emergiendo como alternativas eficaces y accesibles. Se ha demostrado que los omega-3 pueden mejorar la pérdida de plasticidad cerebral inducida por la exposición prenatal al alcohol, lo que sugiere su utilidad en la prevención y el tratamiento de las alteraciones del neurodesarrollo asociadas al alcohol (Joffre et al., 2019; Patten et al., 2013a,b; Serrano et al., 2023). Además, estudios recientes indican que los omega-3 restauran la plasticidad sináptica y mejoran el aprendizaje y la memoria dependientes del hipocampo tras la exposición al alcohol en períodos críticos del desarrollo (Haidary et al., 2024; Serrano et al., 2025). Así, la suplementación con omega-3 previene el deterioro del aprendizaje espacial y asociativo en ratas macho adolescentes expuestas al consumo crónico de alcohol. Esta mejora se relaciona con niveles más bajos de peroxidación lipídica e interleucina-6, lo que supone una reducción del estrés oxidativo y de la neuroinflamación hipocampal (Haidary et al., 2024). Estos hallazgos coinciden con investigaciones previas (Farooqui, 2012; Patten et al., 2013a) y refuerzan el potencial neuroprotector de los omega-3 mediante la restauración del equilibrio redox y la modulación de las vías inflamatorias. Asimismo, los ácidos grasos omega-3, especialmente el ácido docosahexaenoico (DHA), aumentan la fluidez de la membrana, garantizando el correcto funcionamiento de los receptores asociados a ella (Bazinet y Layé, 2014; Joffre et al., 2019), lo que facilita la transmisión y la plasticidad sinápticas (Patten et al., 2013a,b). También modulan la expresión de receptores y de las cascadas de señalización implicadas en la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD) (Patten et al., 2013b; Serrano et al., 2024, 2025), procesos clave para el aprendizaje y la memoria (Peñasco et al., 2020; Serrano et al., 2025).

Se ha observado que la exposición al alcohol durante la adolescencia altera la plasticidad sináptica y modifica la expresión y la función del receptor CB1 en el hipocampo (Peñasco et al., 2020; Risher et al., 2015; Sabeti, 2011; Sanz-Martos et al., 2023), una región implicada en la memoria declarativa, espacial y asociativa. Nuestros estudios previos han mostrado que el *binge drinking* adolescente conduce a una reducción persistente de la expresión del ARNm de CB1 en el hipocampo adulto. Esta disminución se correlaciona con la pérdida de la LTD dependiente de endocannabinoides, lo que contribuye a los déficits de memoria (Peñasco et al., 2020; Rico-Barrio et al., 2019, 2021). Por tanto, comprender el papel del SEC en las alteraciones sinápticas inducidas por el alcohol es fundamental para identificar dianas terapéuticas destinadas a mitigar los efectos.

tos a largo plazo de la exposición adolescente al alcohol y a tratar el TAC (Borgonetti et al., 2024; García-Baos et al., 2021; Kunos, 2020; Serrano et al., 2012, 2018; Stopponi et al., 2018; Wolfe et al., 2022). En particular, el *binge drinking* adolescente disminuye la expresión del receptor CB1 en la región CA1 del hipocampo adulto tras la abstinencia, afectando principalmente a su localización astrocítica y, en menor medida, a las terminales sinápticas excitadoras (Bonilla-Del Río et al., 2019). De manera similar, hemos observado una reducción de los receptores CB1 en las sinapsis excitadoras de la capa molecular del giro dentado tras la exposición al alcohol en la adolescencia (Peñasco et al., 2020). Por el contrario, la suplementación con omega-3 es capaz de aumentar la densidad del receptor CB1 tanto en las terminales sinápticas excitadoras como en las inhibitorias de dicha capa (Serrano et al., 2025). No obstante, aún se desconocen los efectos de una dieta Enriquecida en omega-3 sobre la localización del receptor CB1 en la región CA1 del hipocampo tras la abstinencia de alcohol. Este aspecto es especialmente relevante debido al impacto del alcohol sobre esta región, que contribuye a la formación de memorias asociativas y desempeña un papel clave en el aprendizaje (Jeong et al., 2018; Takamiya et al., 2021).

En el presente estudio analizamos si la suplementación con omega-3 es capaz de modular, en ratones machos, las alteraciones inducidas por el alcohol en la distribución del receptor CB1 en la región CA1 del hipocampo. Mediante técnicas inmunocitoquímicas para microscopía electrónica, aportamos nuevos conocimientos sobre el potencial de los

ácidos grasos omega-3 para contrarrestar las consecuencias neurobiológicas a largo plazo de la exposición adolescente al consumo de alcohol en atracón.

Método

Declaración de ética

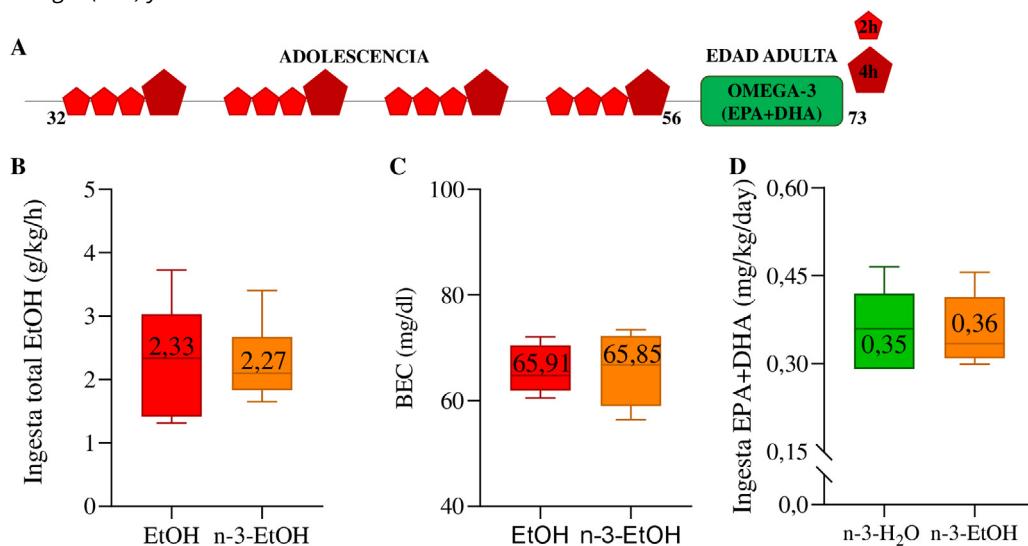
Los protocolos para el cuidado y uso de los animales fueron aprobados por el Comité de Ética para el Bienestar Animal de la Universidad del País Vasco (M20-2020-113; fecha de aprobación: 29/09/2020). Asimismo, cumplían con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas de 22 de septiembre de 2010 (2010/63/EU) y con la normativa española (Real Decreto 53/2013, BOE 08-02-2013). El número de animales y el sufrimiento fueron controlados y minimizados.

Tratamiento de los animales

Ratones machos C57BL/6J de cuatro semanas de edad (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, Francia) fueron alojados por parejas y asignados aleatoriamente al grupo control (H_2O) o al grupo de alcohol (EtOH) ($n = 12$ por grupo). Los animales fueron sometidos al procedimiento drinking-in-the-dark (DID) (Rhodes et al., 2005) entre los días postnatales (PND) 32 y 56, durante un periodo de cuatro semanas (Bonilla-Del Río et al., 2019). Durante los primeros cuatro días de cada semana, los ratones fueron alojados individualmente y se les proporcionó un frasco de 10 mL que contenía agua corriente o una solución de EtOH al 20% v/v (preparada a partir de etanol al 96%; Boter S.L.,

Figura 1

Representación esquemática del modelo de consumo en la oscuridad (DID), ingesta voluntaria de etanol (EtOH), concentración de etanol en sangre (BEC) y consumo de EPA+DHA



Nota. **A.** Los ratones machos C57BL/6J fueron sometidos al procedimiento DID durante cuatro semanas (PND 32–56). Durante este periodo, tuvieron acceso libre a H_2O o EtOH durante 2 horas en los tres primeros días de cada semana y durante 4 horas el cuarto día. Durante el periodo de abstinencia (PND 57–73), a la mitad de los ratones se les administró una dieta enriquecida con omega-3 (2% EPA+DHA: 1,2% EPA y 0,8% DHA). **B.** Ingesta media de EtOH por hora (g/kg/h) a lo largo del DID (PND 32–56) (EtOH: $2,33 \pm 0,90$, $n=6$; n-3-EtOH: $2,27 \pm 0,62$, $n=6$). **C.** BEC (mg/dL) medida tras 4 horas de exposición a EtOH en el último día del procedimiento DID (PND 56) (EtOH: $65,91 \pm 4,59$, $n=6$; n-3-EtOH: $65,85 \pm 6,96$, $n=6$). **D.** Ingesta diaria media de EPA+DHA (mg/kg/día) durante el periodo de abstinencia (PND 57–73) (n-3- H_2O : $0,36 \pm 0,07$, $n=6$; n-3-EtOH: $0,35 \pm 0,06$, $n=6$). Todos los datos se expresan como media ± S.E.M.

Barcelona). El acceso al frasco se mantuvo durante 2 horas en los tres primeros días y se amplió a 4 horas el cuarto día. Los tres días restantes de cada semana se destinaron al periodo de descanso, durante el cual los animales permanecieron con comida y agua *ad libitum* (Figura 1A).

La eficacia del procedimiento DID se evaluó mediante la medición de la ingesta total de EtOH (g/kg/h) (Figura 1B). Además, el último día del protocolo (PND 56), se obtuvieron muestras de sangre de la vena lateral de la cola 30 minutos después de finalizar la exposición al EtOH. La concentración de EtOH en sangre (BEC, mg/dL) se determinó posteriormente utilizando un kit comercial de cuantificación de etanol (Abcam, ab65646, España) (Figura 1C). En nuestras condiciones experimentales, las BEC se situaron por debajo del umbral asociado al *binge drinking* en adolescentes (>80 mg/dL) (Donovan, 2009). No obstante, se ha demostrado que estos niveles inducen alteraciones neurobiológicas significativas en roedores adolescentes (Bonilla-Del Río et al., 2019; Peñasco et al., 2020; Rico-Barrio et al., 2019; Serrano et al., 2025), lo que respalda la validez de este procedimiento como modelo de exposición en atracon (Rhodes et al., 2005).

Durante el periodo de abstinencia (PND 57–73), la mitad de los ratones ($n = 6$ por grupo) recibió una dieta enriquecida con un 2% de ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) (1,2% EPA y 0,8% DHA) (SAFE, Augy, Francia), conformando los grupos n-3-H₂O y n-3-EtOH. Tanto los animales como el alimento se pesaron dos veces por semana con el fin de calcular la ingesta de EPA y DHA (mg/kg/día) (Figura 1D).

Procesamiento del tejido cerebral

En el PND 73, tres ratones de cada grupo fueron profundamente anestesiados con hidrato de cloral al 4% (10 mL/kg de peso corporal, i.p.) y perfundidos a través del ventrículo izquierdo con 30 mL de solución salina tamponada con fosfatos (PBS, 0,1 M, pH 7,4). Posteriormente, se realizó una perfusión con 80 mL de una solución fijadora compuesta por 4% de formaldehído, 0,2% de ácido pícrico y 0,1% de glutaraldehído, preparada en PBS y aplicada a

temperatura ambiente (TA). Los cerebros se extrajeron y se posfijaron en la misma solución fijadora a 4°C durante una semana, tras lo cual se transfirieron a un fijador diluido 1:10. A continuación, se obtuvieron secciones coronales de 50 µm de grosor utilizando un vibratomo (Leica VT 1000S, Wetzlar, Alemania) y se recogieron en tampón fosfato (PB, 0,1 M, pH 7,4) a TA.

Método de doble preinclusión con inmuno-oro e inmunoperoxidasa para microscopía electrónica

El procedimiento se llevó a cabo siguiendo nuestro protocolo (Puente et al., 2015). Secciones coronales del hipocampo de 50 µm se preincubaron durante 30 minutos a TA en una solución de albúmina sérica bovina (BSA) al 10% preparada en solución salina tamponada con Tris-HCl (TBS, pH 7,4) que contenía 0,1% de azida sódica y 0,02% de saponina. A continuación, las secciones se incubaron con anticuerpos primarios altamente específicos frente al receptor CB1 y el transportador glutamato-aspartato (GLAST) (Tabla 1), diluidos en BSA/TBS al 10% con 0,1% de azida sódica y 0,004% de saponina. Esta incubación se realizó con agitación suave durante dos días a 4°C. Tras lavados exhaustivos, las secciones se incubaron con los anticuerpos secundarios correspondientes (Tabla 1) y posteriormente con una solución del complejo avidina-biotina (1:50, PK-7100, Vector Labs) durante 1,5 horas a TA. Finalmente, las secciones se lavaron durante toda la noche y se posfijaron durante 10 minutos en glutaraldehído al 1% preparado en TBS a TA.

Las partículas de oro se intensificaron posteriormente mediante plata utilizando un kit HQ Silver Enhancement (Nanoprobes Inc., Yaphank, NY, EE. UU.) durante 12 minutos en la oscuridad. A continuación, las secciones se trataron con 0,05% de 3,3'-diaminobencidina tetracloruro y 0,01% de peróxido de hidrógeno en PB 0,1 M durante 3 minutos a temperatura ambiente. Tras varios lavados, las secciones teñidas se posfijaron en tetróxido de osmio al 1% en PB 0,1 M durante 20 minutos, se deshidrataron en una serie graduada de alcoholes (50–100%) seguida de óxido de propileno, y se incluyeron en resina

Tabla 1

Anticuerpos primarios y secundarios utilizados

Anticuerpo	Concentración [µg/mL]	Especies y clonalidad	Antígeno inmunizante	Fuente, Cat.
Anti-CB1 receptor	2	Policlonal de cobaya	CB1 de ratón, 31 aa del extremo C-terminal (NM007726)	Nittobo Medical Co., CB1-GP-Af530
Anti-GLAST	0,3	Policlonal de conejo	GLAST de ratón, 41 aa del extremo C-terminal (NM148938)	Nittobo Medical Co., GLAST-Rb-Af660
Anti-cobaya conjugado con oro de 1.4 nm	0,8	Cabra (policlonal)	-	Nanoprobes, #2055
Anti-conejo biotinilado	7,5	Cabra (policlonal)	-	Vector Labs, BA-1000

Tabla 2

Número de terminales excitadoras e inhibidoras y de astrocitos positivos para GLAST en los ratones de cada grupo experimental

H ₂ O				EtOH				n-3-EtOH				n-3-H ₂ O				
n 1	n 2	n 3	Total	n 1	n 2	n 3	Total	n 1	n 2	n 3	Total	n 1	n 2	n 3	Total	
Terminales excitadoras	458	396	283	1137	387	467	430	1284	228	375	276	879^{**}	356	291	372	1019
Terminales inhibidoras	35	54	63	152	38	38	17	93*	37	33	45	115	45	75	52	172^{**}
Astrocitos	115	279	238	632	102	214	126	442	129	135	343	607	350	382	179	911^{**}

Nota. La significación estadística se analizó mediante ANOVA de un factor con pruebas de comparaciones múltiples paramétricas (Bonferroni) o no paramétricas (Dunn), según correspondiera. *p<0,05 comparado con H₂O; **p<0,01 comparado con EtOH y *p<0,05 comparado con n-3-EtOH.

Epon 812. Posteriormente, se obtuvieron secciones ultrafinas de 50 nm con una cuchilla de diamante (Diatome, EE. UU.), las cuales se recogieron en rejillas de malla de níquel y se tiñeron con citrato de plomo al 2,5% durante 20 minutos. Estas secciones se examinaron con un microscopio electrónico (JEOL JEM 1400 Plus, Tokio, Japón), y las imágenes se adquirieron mediante una cámara digital (Mordada sCMOS, Olympus, Tokio, Japón). Las micrografías se capturaron a un aumento de 8.000X, abarcando un área total aproximada de 1.100 μm² por ratón. El número de terminales excitadoras, inhibidoras y astrocitos marcados con GLAST fue consistente entre los grupos experimentales (Tabla 2).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 8 (GraphPad Software; RRID: SCR_002798). La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk, seguida de un ANOVA de un factor y de pruebas de comparación múltiple paramétricas o no paramétricas, según correspondiera. Todos los valores se expresan como media ± S.E.M.

Resultados

Localización del receptor CB1 en terminales sinápticas excitadoras e inhibidoras en el estrato radiado de CA1 después de la abstinencia del binge drinking en la adolescencia

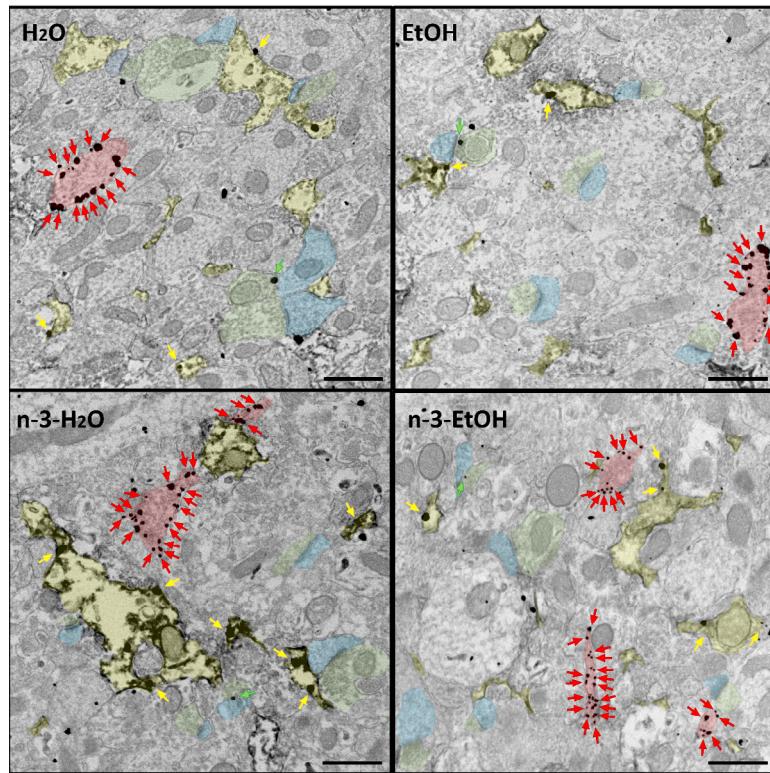
Como era de esperar, las partículas de oro se localizaron en terminales axónicas excitadoras e inhibidoras que formaban contactos sinápticos asimétricos y simétricos con espinas dendríticas y dendritas, respectivamente, en todos los grupos experimentales. Los análisis se realizaron en tres animales por grupo (Figura 2).

El número total de terminales excitadoras en el grupo EtOH (~1.100 μm² por animal) se redujo significativamente en los ratones n-3-EtOH (EtOH: 1.284; n-3-EtOH: 879; EtOH vs. n-3-

EtOH **p<0,01) (Figura 3A; Tabla 2). Además, el número de terminales inhibidoras fue significativamente menor en los ratones EtOH en comparación con los grupos H₂O y n-3-H₂O (H₂O: 152; n-3-H₂O: 172; EtOH: 93; EtOH vs. H₂O *p<0,05; EtOH vs. n-3-H₂O **p<0,01). Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos EtOH y n-3-EtOH, los ratones n-3-H₂O mostraron un número significativamente mayor de terminales inhibidoras en comparación con n-3-EtOH (n-3-EtOH: 115; n-3-H₂O: 172; n-3-EtOH vs. n-3-H₂O *p<0,05) (Figura 3A; Tabla 2). En consecuencia, la proporción de terminales sinápticas excitadoras/inhibidoras aumentó de manera significativa en los ratones EtOH en comparación

Figura 2

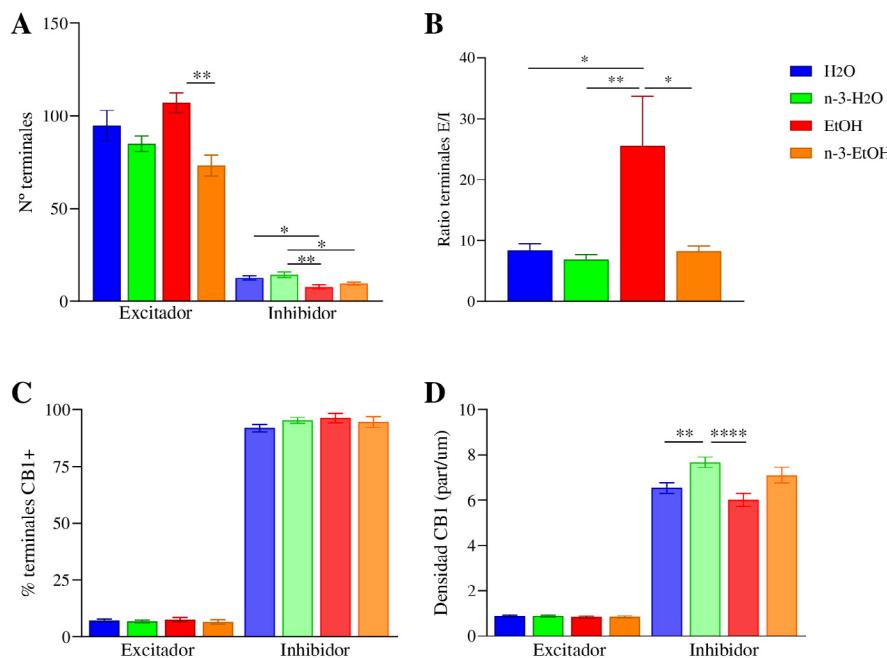
Localización ultraestructural del receptor CB1 en el estrato radiado de CA1 en ratones machos adultos de los grupos H₂O, n-3-H₂O, EtOH y n-3-EtOH



Nota. Los receptores CB1 se localizan en terminales de axones que forman sinapsis simétricas (sombreado y flechas rojas) y asimétricas (sombreado y flechas verdes), estas últimas sobre espinas dendríticas (sombreado azul), así como en membranas astrocíticas (sombreado y flechas amarillas). Barras de escala = 1 μm.

Figura 3

Distribución del receptor CB1 en compartimentos neuronales del estrato radiado de CA1 en ratones machos adultos de los grupos H₂O, n-3-H₂O, EtOH y n-3-EtOH



Nota. **A.** Número total de terminales excitadoras (H₂O: 1.137; n-3-H₂O: 1.019; EtOH: 1.284; n-3-EtOH: 879, **p<0,01 vs. EtOH) e inhibidoras (H₂O: 152; n-3-H₂O: 172; EtOH: 93, *p<0,05 vs. H₂O, *p<0,01 vs. n-3-H₂O; n-3-EtOH: 115, p<0,05 vs. n-3-H₂O) en el área analizada (~1.100 μm²) de los cuatro grupos experimentales. **B.** Ratio entre el número total de terminales excitadoras e inhibidoras (H₂O: 8,36 ± 1,12; n-3-H₂O: 6,83 ± 0,88; EtOH: 25,57 ± 8,11, *p<0,05 vs. H₂O, *p<0,01 vs. n-3-H₂O; n-3-EtOH: 8,21 ± 0,88, p<0,05 vs. EtOH). **C.** Porcentaje de terminales excitadoras (H₂O: 7,18 ± 0,58; n-3-H₂O: 6,86 ± 0,54; EtOH: 7,57 ± 0,91; n-3-EtOH: 6,59 ± 0,91) e inhibidoras CB1 positivas (H₂O: 91,89 ± 1,68; n-3-H₂O: 95,30 ± 1,29; EtOH: 96,30 ± 2,09; n-3-EtOH: 94,64 ± 2,41). **D.** Densidad del receptor CB1 (partículas/μm²) en terminales excitadoras (H₂O: 0,89 ± 0,05; n-3-H₂O: 0,89 ± 0,05; EtOH: 0,84 ± 0,05; n-3-EtOH: 0,84 ± 0,05) e inhibidoras (H₂O: 6,54 ± 0,24; n-3-H₂O: 7,67 ± 0,23, **p<0,01 vs. H₂O; EtOH: 6,02 ± 0,29, **p<0,0001 vs. n-3-H₂O; n-3-EtOH: 97,11 ± 0,35). Todos los datos se expresan como media ± S.E.M. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk, seguida de un ANOVA de un factor con comparaciones múltiples paramétricas (Bonferroni) o no paramétricas (Dunn), según correspondiera.

Tabla 3

Porcentaje de terminales excitadoras, inhibidoras y astrocitos GLAST positivos que expresan el receptor CB1, y densidad de CB1 en el estrato radiado de CA1 en las cuatro condiciones experimentales (n = 3 ratones por grupo)

	H ₂ O	EtOH	n-3-EtOH	n-3-H ₂ O
Terminales excitadoras				
% CB1+	7,18 ± 0,58	7,57 ± 0,91	6,59 ± 0,91	6,86 ± 0,54
Densidad	0,89 ± 0,05	0,84 ± 0,05	0,84 ± 0,05	0,89 ± 0,05
Terminales inhibidoras				
% CB1+	91,89 ± 1,68	96,30 ± 2,09	94,64 ± 2,41	95,30 ± 1,29
Densidad	6,54 ± 0,24	6,02 ± 0,29	7,11 ± 0,35	7,67 ± 0,23****
Astrocitos				
% CB1+	26,92 ± 2,97	19,26 ± 2,67	22,48 ± 2,53	16,65 ± 1,38*
Densidad	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,05	0,70 ± 0,06	0,66 ± 0,04

Nota. Los valores se expresan como media ± S.E.M. La significación estadística se evaluó mediante ANOVA de un factor con pruebas de comparaciones múltiples paramétricas (Bonferroni) o no paramétricas (Dunn), según correspondiera. *p<0,05, p<0,01 en comparación con H₂O; y ****p<0,0001 en comparación con n-3-EtOH.

con los otros grupos experimentales (H₂O: 8,36 ± 1,12; n-3-H₂O: 6,83 ± 0,88; EtOH: 25,57 ± 8,11; n-3-EtOH: 8,21 ± 0,88; EtOH vs. H₂O y n-3-EtOH *p<0,05; EtOH vs. n-3-H₂O **p<0,01) (Figura 3B).

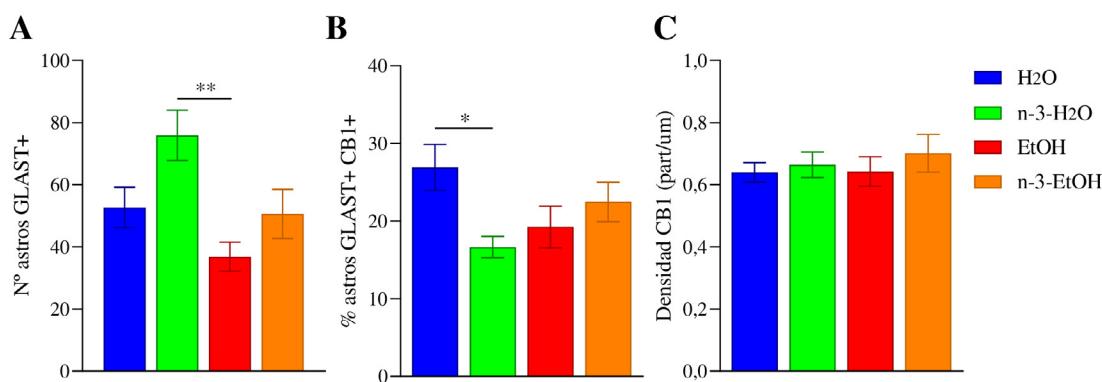
Tanto el porcentaje de terminales excitadoras positivas para CB1 como la densidad de partículas de CB1 fueron similares entre las cuatro condiciones experimentales (n-3-H₂O, EtOH, n-3-EtOH vs. H₂O; p>0,05) (Figura 3C y 3D; Tabla 3). Asimismo, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de terminales inhibidoras positivas para CB1 (n-3-H₂O, EtOH, n-3-EtOH vs. H₂O; p>0,05). Sin embargo, la densidad del receptor aumentó significativamente tras la suplementación con omega-3 de los ratones control (H₂O: 6,54 ± 0,24; n-3-H₂O: 7,67 ± 0,23; n-3-H₂O vs. H₂O **p<0,01) (Figura 3C y 3D; Tabla 3).

Localización del receptor CB1 en astrocitos GLAST positivos en el estrato radiado de CA1 después de la abstinencia del binge drinking en la adolescencia

Las partículas de oro se localizaron en las membranas de los procesos astrocíticos en los cuatro grupos experimentales (Figura 2). El número total de astrocitos positivos para

Figura 4

Distribución del receptor CB1 en astrocitos del estrato radiado de CA1 en ratones machos adultos de los grupos H₂O, n-3-H₂O, EtOH y n-3-EtOH



Nota. **A.** Número total de astrocitos GLAST positivos en el área analizada (~1.100 μm²) para los cuatro grupos experimentales (H₂O: 632; n-3-H₂O: 991; EtOH: 442, p<0,01 vs. n-3-H₂O; n-3-EtOH: 607). **B.** Porcentaje de astrocitos CB1 positivos (H₂O: 26,92 ± 2,97; n-3-H₂O: 16,65 ± 1,38, p<0,05 vs. H₂O; EtOH: 19,26 ± 2,67; n-3-EtOH: 22,48 ± 2,53). **C.** Densidad de CB1 (partículas/μm) en astrocitos GLAST positivos (H₂O: 0,64 ± 0,03; n-3-H₂O: 0,66 ± 0,04; EtOH: 0,64 ± 0,05; n-3-EtOH: 0,70 ± 0,06). Todos los datos se expresan como media ± S.E.M. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk, seguida de un ANOVA de un factor con pruebas de comparaciones múltiples paramétricas (Bonferroni) o no paramétricas (Dunn), según correspondiera.

GLAST en el área analizada (~1.100 μm² por animal) fue significativamente mayor en los ratones n-3-H₂O, en contraste con la disminución observada en los ratones EtOH (n-3-H₂O: 991; EtOH: 442; n-3-H₂O vs. EtOH **p<0,01) (Figura 4A; Tabla 2).

En consonancia, el porcentaje de astrocitos GLAST positivos para CB1 se redujo en los ratones n-3-H₂O en comparación con los controles H₂O (H₂O: 26,92 ± 2,97; n-3-H₂O: 16,65 ± 1,38; n-3-H₂O vs. H₂O *p<0,05) (Figura 3B). No obstante, la densidad del receptor CB1 fue similar entre las cuatro condiciones experimentales (n-3-H₂O, EtOH, n-3-EtOH vs. H₂O; p>0,05) (Figura 3C; Tabla 3).

Discusión

Analizamos la distribución subcelular del receptor CB1 en terminales excitadoras e inhibidoras, así como en astrocitos, en el estrato radiado de la región CA1 del hipocampo. Mediante microscopía electrónica, obtuvimos una localización de alta resolución de CB1, lo que permitió recabar información detallada sobre los efectos sinápticos a largo plazo del *binge drinking* durante la adolescencia tras un periodo de abstinencia, así como sobre la influencia moduladora de una dieta suplementada con omega-3. Los ácidos grasos omega-3, en particular el DHA y el EPA, son esenciales para el mantenimiento de la salud cerebral. Como componentes fundamentales de las membranas neuronales, modulan su fluidez y, en consecuencia, la actividad de los receptores asociados a membrana y los procesos de plasticidad sináptica (Calder, 2016). El DHA, especialmente abundante en el cerebro, desempeña un papel crucial en la poda sináptica y la neuroprotección (Aguilera García

et al., 2010). Sin embargo, el consumo de alcohol reduce la absorción de DHA, disminuyendo sus niveles cerebrales y exacerbando el daño neuronal, particularmente durante la adolescencia (Akbar et al., 2006; Bondi et al., 2014). En contraste, la suplementación con omega-3 restaura los niveles de DHA, favoreciendo la sinaptogénesis, la actividad glutamatérgica y la expresión del receptor CB1 (Hashimoto et al., 2015; Kim, 2008).

Nuestros resultados muestran un aumento significativo en la proporción de terminales sinápticas excitadoras respecto a las inhibidoras en ratones expuestos al alcohol. Este desequilibrio entre excitación e inhibición respalda hallazgos previos que indican que la exposición al alcohol durante la adolescencia altera la organización y la plasticidad sinápticas, particularmente en el hipocampo (Peñasco et al., 2020; Spear, 2018), y podría subyacer a los déficits cognitivos observados en la edad adulta (Serrano et al., 2025; Vetreno y Crews, 2015). De hecho, un desequilibrio persistente entre excitación e inhibición en la región CA1 tras una exposición posnatal en modalidad de atracón se ha asociado con una disregulación de la expresión génica sináptica y mitocondrial, entre la que se encuentra la expresión de Cnr1 que codifica el receptor CB1, contribuyendo a una disfunción sináptica duradera, alteraciones en el aprendizaje y la memoria, así como a un aumento de los comportamientos ansiosos (Arzua et al., 2024). Nuestros datos muestran que la suplementación con omega-3 redujo significativamente el número de terminales excitadoras en CA1 tras la exposición al alcohol durante la adolescencia, con efectos mínimos sobre las terminales inhibidoras. Este efecto permitió restaurar el equilibrio excitador-inhibidor, poniendo de relieve el papel de los omega-3 en el mantenimiento de la integridad sináptica.

Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que demuestran los efectos neuroprotectores de los ácidos grasos omega-3 frente a la neurotoxicidad inducida por el alcohol (Patten et al., 2013b), lo que sugiere que estos lípidos pueden activar mecanismos compensatorios destinados a restablecer la plasticidad sináptica homeostática alterada por la exposición alcohólica en modalidad de atracón. Esta restauración podría implicar la modulación de la composición y la fluidez de la membrana —factores clave en la sinaptogénesis, la poda sináptica y el tráfico de receptores (Calder, 2016; Kim y Spector, 2018)—, así como la preservación de las redes sinápticas (Cao et al., 2009; Feltham et al., 2020; Lafourcade et al., 2011).

Dado el papel del receptor CB1 en la regulación de la transmisión sináptica, la recuperación funcional también podría implicar cambios en su actividad o en sus vías de señalización, incluso en ausencia de alteraciones en los niveles de expresión. En este sentido, observamos que la suplementación con omega-3 aumentó la densidad de CB1 en las terminales inhibidoras bajo condiciones control (H_2O), sin afectar a las terminales excitadoras. Estudios previos han demostrado que los omega-3 incrementan la expresión de CB1 (Kim et al., 2016), y nuestro laboratorio mostró que dicha suplementación aumenta aproximadamente en un 30 % la expresión del receptor en sinaptosomas hippocampales en comparación con los controles (Serrano et al., 2024). Este incremento se asoció con la inducción de una LTP dependiente de endocannabinoides en las sinapsis excitadoras de la vía perforante medial en la capa molecular del giro dentado, una reducción de los comportamientos ansiosos y una mejora en la discriminación de objetos no-vedosos (Serrano et al., 2024). Desde un punto de vista mecanístico, la potenciación requirió la participación de receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I, del endocannabinoide 2-AG y del receptor CB1 (Serrano et al., 2024).

Recientemente, demostramos que la suplementación con omega-3 durante la abstinencia alcohólica de ratones machos expuestos al alcohol mediante un modelo de *binge drinking* durante la adolescencia, aumentó la densidad del receptor CB1 en terminales presinápticas y restauró la unión de [³⁵S]GTP γ S estimulada por receptor a proteínas Gai/o. Estos efectos se asociaron con la inducción de una LTP en las sinapsis excitadoras de la vía perforante medial dependiente de AEA, del receptor de potencial transitorio tipo V1 (TRPV1) y de receptores NMDA, así como con una mejora parcial de los déficits cognitivos evaluados mediante el laberinto de Barnes (Serrano et al., 2025). Es plausible que los ácidos grasos omega-3 también modulen la transmisión y la plasticidad inhibidoras en la capa molecular del giro dentado y en el estrato radiado de CA1; sin embargo, se requieren estudios adicionales para confirmar esta hipótesis.

En este mismo estudio previo, la densidad del receptor CB1 aumentó significativamente en las terminales inhibidoras de la capa molecular del giro dentado tras el periodo de abstinencia, incrementándose aún más con la suplementación con omega-3 (Serrano et al., 2025). Este efecto no se observó en el estrato radiado de la región CA1, donde ni la exposición alcohólica ni la suplementación con omega-3 modificaron la densidad de CB1 en terminales excitadoras o inhibidoras. En conjunto, estos resultados indican que los efectos a largo plazo del alcohol y su modulación por los omega-3 dependen de la región y subregión del hipocampo, lo que subraya la necesidad de enfoques específicos por región para evaluar tanto las consecuencias fisiopatológicas como los potenciales beneficios terapéuticos.

En cuanto a los astrocitos, estudios anteriores de nuestro laboratorio demostraron que el *binge drinking* durante la adolescencia altera la morfología astrocítica y reduce en aproximadamente un 40 % la proporción de procesos astrocíticos positivos para CB1 identificados con anticuerpos frente a la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), así como en un 30 % la densidad del receptor en el estrato radiado de la región CA1 de ratones machos adultos (Bonilla-Del Río et al., 2019). Por el contrario, el presente estudio no detectó cambios en la expresión de CB1 en astrocitos identificados con GLAST, lo que podría atribuirse a diferencias en los marcadores empleados. En este sentido, GFAP se localiza principalmente en los somas de los astrocitos, mientras que GLAST se expresa de forma abundante en sus procesos, cubriendo una mayor área y superficie de membrana (Achicallende et al., 2022). En definitiva, GLAST resulta ser un marcador más adecuado para estudios detallados de la localización de CB1 en astrocitos, dado que hasta un 12 % del CB1 total se encuentra en astrocitos GLAST-positivos, el doble de lo observado con GFAP (Achicallende et al., 2022).

La ausencia de alteraciones en la expresión de CB1 en astrocitos GLAST-positivos sugiere que la señalización anti-inflamatoria mediada por este receptor se mantiene intacta tras el periodo de abstinencia. De manera similar, tampoco se observaron cambios en la capa molecular del giro dentado (Serrano et al., 2025). Por el contrario, la suplementación con omega-3 indujo modificaciones en la morfología astrocítica y en la distribución subcelular de CB1 dentro de los compartimentos astrocíticos, caracterizadas por un aumento en el número de compartimentos GLAST-positivos y una reducción en la proporción de astrocitos positivos para CB1, sin variaciones en la densidad total del receptor. Estos hallazgos sugieren que los omega-3 pueden modular la arquitectura de los astrocitos, incrementando la complejidad de sus procesos, y afectar indirectamente la localización de CB1 mediante mecanismos de remodelación morfológica, en vez de a través de cambios directos en los niveles de expresión del receptor (Champeil-Potokar et al., 2016; Das y Das, 2019; Joffre et al., 2019).

En conclusión, nuestros resultados refuerzan la evidencia de que las intervenciones dietéticas pueden modular el sistema endocannabinoide, ofreciendo un enfoque no farmacológico de interés de cara a mitigar los efectos adversos del consumo de alcohol en la adolescencia sobre la función cerebral. Estudios futuros deberán esclarecer los mecanismos subyacentes, en particular cómo los ácidos grasos omega-3 influyen en el equilibrio excitador-inhibidor a través del receptor CB1 en las terminales inhibidoras y regulan la función de los astrocitos. También es necesario incorporar modelos de *binge drinking* en hembras adolescentes para evaluar posibles diferencias dependientes del sexo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Cristina López-Andrés por la captura de las imágenes de ME. Esta investigación fue financiada por el Gobierno Vasco (IT1620-22 a PG); RD21/0009/0006 (a PG) y RD24/0003/0027 (a IG) financiados por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII); Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2022-138266NB-I00 apoyado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por las FEDER Una manera de hacer Europa, a GGdC). Garazi Ocerin cuenta con un contrato predoctoral financiado a través de las ayudas RD24/0003/0027 e IT1620-22.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Referencias

- Abrahao, K. P., Salinas, A. G. y Lovinger, D. M. (2017). Alcohol and the brain: neuronal molecular targets, synapses and circuits. *Neuron*, 96(6), 1223–1238. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.032>
- Achicallende, S., Bonilla-Del Río, I., Serrano, M., Mimentza, A., Lekunberri, L., Anaut-Lusar, I., Puente, N., Gerrikagoitia, I. y Grandes, P. (2022). GLAST versus GFAP as astroglial marker for the subcellular study of cannabinoid CB1 receptors in astrocytes. *Histochemistry and Cell Biology*, 158(6), 561–569. <https://doi.org/10.1007/s00418-022-02139-4>
- Aguilera García, C., Navarro Alarcón, M., Alonso Aperte, E., Álvarez Mercado, A. I., Carvajales, P. A. y Arredondo Olgún, M. (2010). *Tratado de Nutrición. Tomo I. Bases Fisiológicas y bioquímicas de la Nutrición* (2nd ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Akbar, M., Baick, J., Calderon, F., Wen, Z. y Kim, Y. (2006). Ethanol promotes neuronal apoptosis by inhibiting phosphatidylserine accumulation. *Journal of Neuroscience Research*, 83, 432–440. <https://doi.org/10.1002/jnr>
- Arzua, T., Yan, Y., Liu, X., Dash, R. K., Liu, Q.-S. y Bai, X. (2024). Synaptic and mitochondrial mechanisms behind alcohol-induced imbalance of excitatory/inhibitory synaptic activity and associated cognitive and behavioral abnormalities. *Translational Psychiatry*, 14, 51. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-02748-8>
- Basavarajappa, B., Cooper, T. B. y Hungund, B. L. (1998). Chronic ethanol administration down-regulates cannabinoid receptors in mouse brain synaptic plasma membrane. *Brain Research*, 793, 212–218. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00175-9](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00175-9)
- Bazinet, R. P. y Layé, S. (2014). Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(12), 771–785. <https://doi.org/10.1038/nrn3820>
- Bondi, C., Taha, A., Tock, J., NK, T., Cheon, Y., Torres, G., Rapoport, R. y Moghaddam, B. (2014). Adolescent behavior and dopamine availability are uniquely sensitive to dietary omega-3 fatty acid deficiency. *Biological Psychiatry*, 75(1). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.06.007>
- Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Peñasco, S., Rico, I., Guittérrez-Rodríguez, A., Elezgarai, I., Ramos, A., Regueiro, L., Gerrikagoitia, I., Christie, B. R., Nahirney, P. y Grandes, P. (2019). Adolescent ethanol intake alters cannabinoid type-1 receptor localization in astrocytes of the adult mouse hippocampus. *Addiction Biology*, 24(2), 182–192. <https://doi.org/10.1111/adb.12585>
- Borgonetti, V., Vozella, V., Ware, T., Cruz, B., Bullard, R., Cravatt, B. F., Galeotti, N. y Roberto, M. (2024). Excessive alcohol intake produces persistent mechanical allodynia and dysregulates the endocannabinoid system in the lumbar dorsal root ganglia of genetically-selected Marchigian Sardinian alcohol-preferring rats. *Pharmacological Research*, 209, 107462. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107462>
- Calder, P. C. (2016). Docosahexaenoic Acid. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(1), 8–21. <https://doi.org/10.1159/000448262>
- Cao, D., Kevala, K., Kim, J., Moon, H., Beom Jun, S., Lovinger, D. y Kim, H. (2009). Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function. *Journal of Neurochemistry*, 111(2), 510–521. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06335.x>
- Ceccarini, J., Hompes, T., Verhaeghen, A., Casteels, C., Peuskens, H., Bormans, G., Claes, S. y Van Laere, K. (2014). Changes in cerebral CB1 receptor availability after acute and chronic alcohol abuse and monitored abstinence. *Journal of Neuroscience*, 34(8), 2822–2831. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0849-13.2014>
- Champeil-Potokar, G., Hennebelle, M., Latour, A., Van-cassel, S. y Denis, I. (2016). DHA prevents corticosterone-induced changes in astrocyte morphology and function. *Journal of Neurochemistry*, 136, 1155–1167. <https://doi.org/10.1016/j.jn.2016.07.024>

- Cservenka, A. y Brumback, T. (2017). The burden of binge and heavy drinking on the brain: Effects on adolescent and young adult neural structure and function. *Frontiers in Psychology*, 8, 1111. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.01111>
- Das, M. y Das, S. (2019). Docosahexaenoic acid (DHA) induced morphological differentiation of astrocytes is associated with transcriptional upregulation and endocytosis of β 2-AR. *Molecular Neurobiology*, 56, 2685–2702. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1260-0>
- Donovan, J. E. (2009). Estimated blood alcohol concentrations for child and adolescent drinking and their implications for screening instruments. *Pediatrics*, 123(6), 975–981. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0027>
- Farooqui, A. A. (2012). *Lipid mediators and their metabolism in the brain*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9940-5>
- Feltham, B. A., Louis, X. L., Eskin, M. N. A. y Suh, M. (2020). Docosahexaenoic acid: outlining the therapeutic nutrient potential to combat the prenatal alcohol-induced insults on brain development. *Advances in Nutrition*, 11(3), 724–735. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz135>
- García-Baos, A., Alegre-Zurano, L., Cantacorps, L., Martín-Sánchez, A. y Valverde, O. (2021). Role of cannabinoids in alcohol-induced neuroinflammation. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 104, 110054. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110054>
- Gonzalez, S., Cascio, M. G., Fernandez-Ruiz, J., Fezza, F., Di Marzo, V. y Ramos, J. (2002). Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Research*, 954(1), 73–81. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)03344-9](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03344-9)
- Haidary, M., Ahmadi-Soleimani, S. M., Ghofraninezhad, M., Azhdari-Zarmehri, H. y Beheshti, F. (2024). Omega-3 fatty acids supplementation prevents learning and memory impairment induced by chronic ethanol consumption in adolescent male rats through restoration of inflammatory and oxidative responses. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 84, 423–433. <https://doi.org/10.1002/jdn.10336>
- Hashimoto, M., Katakura, M., Tanabe, Y., Al Mamun, A., Inoue, T., Hossain, S., Arita, M. y Shido, O. (2015). N-3 fatty acids effectively improve the reference memory-related learning ability associated with increased brain docosahexaenoic acid-derived docosanoids in aged rats. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851, 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.bbapli.2014.10.009>
- Hirvonen, J., Zanotti-Fregonara, P., Umhau, J. C., George, D. T., Rallis-Frutos, D., Lyoo, C. H., Li, C. T., Hines, C. S., Sun, H., Terry, G. E., Morse, C., Zoghbi, S. S., Pike, V. W., Innis, R. B. y Heilig, M. (2013). Reduced cannabinoid CB 1 receptor binding in alcohol dependence measured with positron emission tomography. *Molecular Psychiatry*, 18(8), 916–921. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.100>
- Jeong, Y., Huh, N., Lee, J., Yun, I., Lee, J., Lee, I. y Jung, M. (2018). Role of the hippocampal CA1 region in incremental value learning. *Scientific Reports*, 8(1), 9870. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28176-5>
- Joffre, C., Rey, C. y Layé, S. (2019). N-3 polyunsaturated fatty acids and the resolution of neuroinflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1022. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01022>
- Kang, E., Yun, B., Cha, J., Suk, H. y Shin, E. (2024). Neurodevelopmental imprints of sociomarkers in adolescent brain connectomes. *Scientific Reports*, 14(1), 20921. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71309-2>
- Keshavan, M., Giedd, J., Lau, J., Lewis, D. y Paus, T. (2014). Changes in the adolescent brain and the pathophysiology of psychotic disorders. *Lancet Psychiatry*, 1(7), 549–558. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(14\)00081-9](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(14)00081-9)
- Kim, H. Y. (2008). Biochemical and biological functions of docosahexaenoic acid in the nervous system: modulation by ethanol. *Chemistry and Physics of Lipids*, 153(1), 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2008.02.014>
- Kim, H. Y. y Spector, A. (2018). N-Docosahexaenoylethanolamine: a neurotrophic and neuroprotective metabolite of docosahexaenoic acid. *Molecular Aspects of Medicine*, 64, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.03.004>
- Kim, J., Carlson, M. E., Kuchel, G. A., Newman, J. W. y Watkins, B. A. (2016). Dietary DHA reduces downstream endocannabinoid and inflammatory gene expression and epididymal fat mass while improving aspects of glucose use in muscle in C57BL/6J mice. *International Journal of Obesity*, 40, 129–137. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.135>
- Kunos, G. (2020). Interactions between alcohol and the endocannabinoid system. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 44(4), 790–805. <https://doi.org/10.1111/acer.14306>
- Lafourcade, M., Larrieu, T., Mato, S., Duffaud, A., Sepers, M., Matias, I., De Smedt-Peyrusse, V., Labrousse, V. F., Bretillon, L., Matute, C., Rodríguez-Puertas, R., Layé, S. y Manzoni, O. J. (2011). Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nature Neuroscience*, 14(3), 345–350. <https://doi.org/10.1038/nn.2736>
- Lovinger, D. M. y Abrahao, K. P. (2018). Synaptic plasticity mechanisms common to learning and alcohol use disorder. *Learning and Memory*, 25, 425–434. <https://doi.org/10.1101/lm.046722.117>
- Lovinger, D. M. y Alvarez, V. (2017). Alcohol and basal ganglia circuitry: animal models. *Neuropharmacology*,

- gy, 1(122), 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.03.023>
- Lovinger, D. M. y Roberto, M. (2013). Synaptic effects induced by alcohol. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 13, 31–86. https://doi.org/10.1007/7854_2011_143
- Lu, H. y Mackie, K. (2021). Review of the endocannabinoid system. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 6(6), 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2020.07.016>
- Maccioni, P., Colombo, G. y Carai, M. (2010). Blockade of the cannabinoid CB1 receptor and alcohol dependence: Preclinical evidence and preliminary clinical data. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 9, 55–59. <https://doi.org/10.2174/187152710790966623>
- Metna-Laurent, M. y Marsicano, G. (2015). Rising stars modulation of brain functions by astroglial type-1 cannabinoid receptors. *GLIA*, 63(3), 353–364. <https://doi.org/10.1002/glia.22773>
- Ministerio de Salud. (2025). *Estudes 2025*.
- Navarrete, F., Garcia-Gutierrez, M. S., Gasparian, A., Navarro, D., Lopez-Picon, F., Morcuende, A., Femenia, T. y Manzanares, J. (2022). Biomarkers of the endocannabinoid system in substance use disorders. *Biomolecules*, 12(3), 396. <https://doi.org/10.3390/biom12030396>
- Ortiz, S., Oliva, J. M., Pérez-Rial, S., Palomo, T. y Manzanares, J. (2004). Chronic ethanol consumption regulates cannabinoid CB1 receptor gene expression in selected regions of rat brain. *Alcohol and Alcoholism*, 39(2), 88–92. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agh036>
- Patten, A., Brocardo, P. S. y Christie, B. R. (2013a). Omega-3 supplementation can restore glutathione levels and prevent oxidative damage caused by prenatal ethanol exposure. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(5), 760–769. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.04.003>
- Patten, A., Sickmann, H. M., Dyer, R. A., Innis, S. M. y Christie, B. R. (2013b). Omega-3 fatty acids can reverse the long-term deficits in hippocampal synaptic plasticity caused by prenatal ethanol exposure. *Neuroscience Letters*, 551, 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.05.051>
- Pava, M. y Woodward, J. (2012). A Review of the interactions between alcohol and the endocannabinoid system: implications for alcohol dependence and future directions for research. *Alcohol*, 46(3), 185–204. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2012.01.002.A>
- Peñasco, S., Rico-Barrio, I., Puente, N., Fontaine, C. J., Ramos, A., Reguero, L., Gerrikagoitia, I., Rodríguez de Fonseca, F., Barrondo, S., Aretxabala, X., García del Caño, G., Elezgarai, I., Nahirney, P., Christie, B. R. y Grandes, P. (2020). Intermittent ethanol exposure during adolescence impairs cannabinoid type 1 receptor-dependent long-term depression and recognition memory in adult mice. *Neuropsychopharmacology*, 45, 309–318. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0530-5>
- Puente, N., Reguero, L., Elezgarai, I., Canduela, M. J., Mendizabal-Zubiaga, J., Ramos-Uriarte, A., Fernández-Espejo, E. y Grandes, P. (2015). The transient receptor potential vanilloid-1 is localized at excitatory synapses in the mouse dentate gyrus. *Brain Structure and Function*, 220(2), 1187–1194. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0711-2>
- Rhodes, J. S., Best, K., Belknap, J. K., Finn, D. A. y Crabbe, J. C. (2005). Evaluation of a simple model of ethanol drinking to intoxication in C57BL/6J mice. *Physiology and Behavior*, 84, 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.10.007>
- Rico-Barrio, I., Peñasco, S., Lekunberri, L., Serrano, M., Egaña-Huguet, J., Mimenza, A., Soria-Gomez, E., Ramos, A., Buceta, I., Gerrikagoitia, I., Mendizabal-Zubiaga, J., Elezgarai, I., Puente, N. y Grandes, P. (2021). Environmental enrichment rescues endocannabinoid-dependent synaptic plasticity lost in young adult male mice after ethanol exposure during adolescence. *Biomedicines*, 9(7), 825. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070825>
- Rico-Barrio, I., Peñasco, S., Puente, N., Ramos, A., Fontaine, C. J., Reguero, L., Giordano, M. E., Buceta, I., Terradillos, I., Lekunberri, L., Mendizabal-Zubiaga, J., Rodríguez de Fonseca, F., Gerrikagoitia, I., Elezgarai, I. y Grandes, P. (2019). Cognitive and neurobehavioral benefits of an enriched environment on young adult mice after chronic ethanol consumption during adolescence. *Addiction Biology*, 24(5), 969–980. <https://doi.org/10.1111/adb.12667>
- Risher, M. L., Fleming, R. L., Risher, C., Miller, K., Klein, R., Wills, T., Acheson, S., Moore, S., Wilson, W., Eroglu, C. y Swartzwelder, H. S. (2015). Adolescent intermittent alcohol exposure: persistence of structural and functional hippocampal abnormalities into adulthood. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39(6), 989–997. <https://doi.org/10.1111/acer.12725>
- Sabeti, J. (2011). Ethanol exposure in early adolescence inhibits intrinsic neuronal plasticity via sigma-1 receptor activation in hippocampal CA1 neurons. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(5), 885–904. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01419.x>
- Sanchez-Marin, L., Flores-Lopez, M., Pastor, A., Gavito, A., Suarez, J., De la Torre, R., Pavón, F., Rodriguez de Fonseca, F. y Serrano, A. (2022). Acute stress and alcohol exposure during adolescence results in an anxious phenotype in adulthood: Role of altered glutamate/endocannabinoid transmission mechanisms. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 8(113), 110460. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110460>
- Sanz-Martos, A. B., Fuentes-Verdugo, E., Merino, B., Morales, L., Pérez, V., Capellán, R., Pellón, R., Miguéns, M. y del Olmo, N. (2023). Schedule-induced alcohol intake during adolescence sex dependently impairs hippocam-

- pal synaptic plasticity and spatial memory. *Behavioural Brain Research*, 452, 114576. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114576>
- Serrano, A., Pavon, F., Buczynsky, M., Schlosburg, J., Natividad, L. A., Polis, I., Stouffer, D., Zorrilla, E., Roberto, M., Cravatt, B., Martin-Fardon, R., Rodriguez de Fonseca, F. y Parsons, L. H. (2018). Deficient endocannabinoid signaling in the central amygdala contributes to alcohol dependence-related anxiety-like behavior and excessive alcohol intake. *Neuropharmacology*, 43(9), 1840–1850. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0055-3>
- Serrano, A., Rivera, P., Pavon, F., Decara, J., Suarez, J., Rodriguez de Fonseca, F. y Parsons, L. (2012). Differential effects of single versus repeated alcohol withdrawal on the expression of endocannabinoid system-related genes in the rat amygdala. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 36(6), 984–994. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01686.x>
- Serrano, M., Rico-Barrio, I. y Grandes, P. (2023). The effect of omega-3 fatty acids on alcohol-induced damage. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1068343. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1068343>
- Serrano, M., Saumell-Esnaola, M., Ocerin, G., García del Caño, G., Puente, N., Sallés, J., Rodriguez de Fonseca, F., Rodriguez Arias, M., Guerricagoitia, I. y Grandes, P. (2024). Impact of omega-3 on endocannabinoid system expression and function, enhancing cognition and behavior in male mice. *Nutrients*, 16(24), 4344. <https://doi.org/10.3390/nu16244344>
- Serrano, M., Saumell-Esnaola, M., Ocerin, G., García del Caño, G., Soria-Gómez, E., Mimenza, A., Puente, N., Bonilla-Del Río, I., Ramos-Uriarte, A., Reguero, L., Christie, B. R., Rodriguez De Fonseca, F., Rodriguez Arias, M., Gerrikagoitia, I. y Grandes, P. (2025). Omega-3 fatty acids mitigate long-lasting disruption of the endocannabinoid system in the adult mouse hippocampus following adolescent binge drinking. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12), 5507. <https://doi.org/10.3390/ijms26125507>.
- Spear, L. P. (2018). Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(4), 197–214. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.10>
- Stopponi, S., Fotio, Y., Domí, A., Borruto, A., Natividad, L., Roberto, M., Ciccocioppo, R. y Cannella, N. (2018). Inhibition of fatty acid amide hydrolase in the central amygdala alleviates co-morbid expression of innate anxiety and excessive alcohol intake. *Addiction Biology*, 23(6), 1223–1232. <https://doi.org/10.1111/adb.12573>
- Takamiya, S., Shiotani, K., Ohnuki, T., Osako, Y., Tanimoto, Y., Yuki, S., Manabe, H., Hirokawa, J. y Sakurai, Y. (2021). Hippocampal CA1 neurons represent positive feedback during the learning process of an associative memory task. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 15, 718619. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.718619>
- Vetreno, R. P. y Crews, F. T. (2015). Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00035>
- Vinod, K. Y., Yalamanchili, R., Xie, S., Cooper, T. B. y Hungund, B. L. (2006). Effect of chronic ethanol exposure and its withdrawal on the endocannabinoid system. *Neurochemistry International*, 49, 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.05.002>
- Wolfe, S., Vozella, V. y Roberto, M. (2022). The synaptic interactions of alcohol and the endogenous cannabinoid system. *Alcohol Research*, 42(1), 03. <https://doi.org/10.35946/arcr.v42.1.03>



ORIGINAL

Diferencias sexuales en tareas emocionales y cognitivas en ratas expuestas a atracones de alcohol y en controles durante la adultez temprana

Sex differences in emotional and cognitive tasks in rats exposed to alcohol binges and controls during early adulthood

LETICIA LÓPEZ-VALENCIA*, **; EVA BONILLA *, **, ***; BERTA ESCUDERO*, **, ***; LAURA ORIO*, **, ***.

* Departamento de Psicobiología y Metodología en Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Pozuelo de Alarcón 28223, España.

** Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario 12 de Octubre (imas12), 28041, Madrid, España.

*** Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd) (Research network in primary care in addictions), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), España.

Resumen

Integrar la perspectiva de sexo en estudios preclínicos sobre la exposición excesiva a alcohol durante la juventud o la adultez temprana sigue siendo limitada. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de altas dosis de etanol en el comportamiento emocional y la cognición en ratas de 8 semanas de edad, considerando diferencias de sexo. Machos y hembras fueron expuestos a atracones de etanol (3 g/kg, vía oral; 3 veces al día durante 4 días) en un paradigma de dos días alternos, y evaluados en el laberinto elevado en cruz (EPM), la prueba de natación forzada (FST), la prueba de preferencia de sacarina (SPT), el laberinto acuático de Morris (MWM) y la prueba de reconocimiento de objetos nuevos (NOR).

Se observaron diferencias basales entre machos y hembras controles en tareas emocionales, motivacionales y cognitivas. Además, la Exposición Intensiva al Alcohol (EIA) ejerció efectos específicos por sexo en: a) EPM: los machos mostraron ansiedad y ningún efecto en las hembras; b) FST: síntomas similares a la depresión en ambos sexos, pero un tiempo de inmovilidad más pronunciado en las hembras; c) Prueba NOR: Se observó deterioro de la memoria a corto plazo en ambos sexos, pero las hembras mostraron un mejor rendimiento a largo plazo en comparación con sus controles. No se observaron efectos relacionados con la EIA en las pruebas de conducta SPT ni en MWM.

Estos resultados sugieren diferencias inherentes entre sexos en el rendimiento de los roedores en pruebas conductuales que evalúan las conductas emocionales, motivacionales y cognitivas. Además, la EIA podría afectar de forma diferente a machos y hembras durante la abstinencia en adultez temprana. Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar el sexo como una variable crítica en los estudios preclínicos.

Palabras clave: Alcohol, juventud, comportamiento, atracones, diferencias sexuales

Abstract

A sex perspective in the behavioural effects induced by alcohol binge exposure during youth or early adulthood remain limited. This study aimed to evaluate the effects of high doses of ethanol on emotional behaviour and cognition in 8-weeks old rats, from a sex perspective. Male and female animals were exposed to ethanol binges (3 g/kg, i.g; 3 times/day x 4 days) in a 2days on-2days off paradigm and assessed in the elevated plus maze (EPM), forced swimming test (FST), saccharin preference test (SPT), Morris water maze (MWM) and novel object recognition (NOR) test.

Baseline differences between control male and females were observed in emotional, motivational and cognitive tasks. Additionally, Intensive Alcohol Exposure (IAE) exerted sex-specific effects in: a) EPM: males showed anxiety and no effect in females; b) FST: depressive-like symptoms in both sexes but more pronounce immobility time in females; c) NOR test: impairment in a short-term memory in both sexes but females displayed improved performance in a long-term versus their controls. No IAE-related effects were found in the SPT or MWM.

These results suggest inherent sex-differences in rodent performance in behavioural tests assessing emotional, motivational and cognitive behaviours. Additionally, IAE may impact male and females differently during abstinence in early adulthood. These findings underscore the importance of considering sex as a critical variable for preclinical studies.

Key words: Alcohol, youth, behaviour, binge drinking, sex differences

■ Recibido: Julio 2025; Aceptado: Octubre 2025.

■ Enviar correspondencia a:

Dr. Laura Orío Ortiz. Departamento de Psicobiología y Metodología en Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid. Campus de Somosaguas, Ctra. de Húmera, s/n. Madrid, Pozuelo de Alarcón, 28223, España.
E-mail: lorio@psi.ucm.es. Tlf:+34 913943074.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

Tradicionalmente, la mayoría de los estudios preclínicos en modelos animales se han realizado en machos y, por lo tanto, existe una significativa falta de información y un sesgo por sexo en una gran cantidad de resultados biomédicos y psicobiológicos. Durante la última década, se ha producido un giro vertiginoso en la comunidad científica sobre este tema, instando a la incorporación de la variable sexo en todas las investigaciones preclínicas y también de la perspectiva de género en los estudios en humanos. De hecho, los cambios políticos, como el mandato de 2016 de los National Institutes of Health (NIH), enfatizan la inclusión del sexo como una variable biológica crítica en la investigación preclínica y clínica (Campbell et al., 2024; Costa-Valle et al., 2022; Kaluve et al., 2022). Esta necesidad emergente de comprender las diferencias por sexo en la investigación preclínica también afecta a los estudios relacionados con el abuso de alcohol. Aunque los esfuerzos para abordar estos sesgos metodológicos se han intensificado en los últimos años, la exploración de las diferencias basadas en el sexo en el contexto del abuso de alcohol sigue siendo escasa, específicamente el impacto del abuso de alcohol en las respuestas conductuales, incluidas las subdivisiones emocionales y cognitivas.

Varias líneas de investigación que estudian el impacto del consumo de alcohol en atracón (CAA) en jóvenes o adultos tempranos, incluida nuestra propia experiencia, han conducido a importantes consecuencias biológicas y conductuales de este patrón tan peligroso de consumo de alcohol sin un enfoque específico en la variable sexo (Antón et al., 2017, 2018), y solo más recientemente hemos abordado esta cuestión importante (López-Valencia et al., 2024; Orio et al., 2018).

El CAA consiste en una exposición intensiva al alcohol (EIA). Se define como el consumo de 4 o 5 unidades estándar de bebida (UBE) en un corto período de tiempo. Se sabe que el aumento agudo en los niveles de etanol en sangre (BELs) alcanzado durante este patrón de consumo de alcohol (≥ 80 g/dL) contribuye a los efectos neurotóxicos y a las alteraciones en la plasticidad cerebral (Patrick et al., 2021; Waszkiewicz et al., 2018), y está asociado con neuroinflamación y alteraciones emocionales y cognitivas (Antón et al., 2017; Crews et al., 2016; Orio et al., 2018; Pascual et al., 2007, 2014). A pesar de sus resultados adversos, el CAA es particularmente prevalente entre adolescentes y jóvenes, quienes suelen sentirse atraídos hacia este patrón de consumo debido a su asociación con la desinhibición conductual. La OMS y otros sistemas globales de monitoreo han informado sobre la prevalencia del consumo episódico intenso en diferentes grupos de edad, enfatizando su impacto en la salud pública (World Health Organization, 2024). Los jóvenes son más vulnerables a los efectos reforzadores de las drogas, especialmente del alcohol, que a menudo es fácilmente accesible en muchos entornos. De hecho, una combinación de vulnerabilidad biológica y una predisposición a buscar nuevas experiencias aumenta el riesgo de consumo y abuso de sustancias durante la adolescencia (Chung et al., 2018; Maldonado-Devincci et al., 2022; Sicher et al., 2022; Spear, 2018).

Este estudio tiene como objetivo investigar los efectos de la EIA de manera comparativa en ratas jóvenes macho y hembra durante la abstinencia temprana, utilizando un modelo animal validado y centrándose en comportamientos cognitivos y emocionales. Buscar posibles diferencias específicas por sexo en el desempeño de varias pruebas nos ayudará potencialmente a comprender mejor las diferencias basales en el comportamiento normal y el mecanismo subyacente del abuso de alcohol para cada sexo en un futuro próximo.

Material y métodos

Animales

Cincuenta y siete ratas Wistar (Envigo©, Barcelona, España) de siete semanas de edad a su llegada se utilizaron en todos los experimentos. Las hembras y los machos fueron alojados en diferentes habitaciones aisladas en grupos de 3-4 por jaula. Se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad ($59 \pm 10\%$) bajo un ciclo invertido de 12 h oscuridad-luz (luces encendidas a las 8:00 p.m.), con libre acceso a comida y agua. Los animales se habituaron a estas condiciones durante una semana antes de los experimentos y luego fueron manipulados suavemente para aclimatarse a los experimentadores y al procedimiento de gavage.

Todos los procedimientos fueron aprobados y se ajustaron a las directrices del Comité de Bienestar Animal de la Universidad Complutense de Madrid (referencias de aprobación ética: PROEX 312/19; PROEX 122.7/23), siguiendo la legislación europea (2010/63/EU).

Diseño experimental

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a los grupos control y alcohol: grupo control macho ($n=9$), grupo alcohol macho ($n=10$), grupo control hembra ($n=18$) y grupo alcohol hembra ($n=20$). Las ratas recibieron dosis intermitentes intragástricas (i.g.) de etanol o agua tres veces al día durante cuatro días utilizando cánulas específicas (aguja 16-G, Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), en un protocolo de 2 días de administración/2 días de descanso (Fig. 1A). Este es un protocolo modificado (de Antón et al., 2017; Obernier et al., 2002; Rodríguez-González et al., 2021) previamente utilizado por nuestro grupo (Lopez-Valencia et al., 2024), que introduce un período de abstinencia, un factor relevante implicado en los efectos perjudiciales del consumo en atracón (Pascual et al., 2007). Los experimentos en hembras se realizaron por duplicado para aumentar la validez interna de los resultados, que se presentan como un conjunto de datos procedentes de dos experimentos idénticos.

Evaluación conductual

La evaluación conductual fue programada con un intervalo de tiempo suficiente para evitar interferencias entre las pruebas, y se realizó durante la fase oscura (ver Fig. 1B para la línea temporal experimental). Las ratas fueron evaluadas en

pruebas tradicionales utilizadas para analizar alteraciones emocionales y cognitivas, siguiendo una alternancia de los grupos experimentales en todas las pruebas. Los análisis se realizaron mediante un protocolo doble ciego para asegurar la veracidad de los resultados.

Conducta tipo ansiosa: Laberinto en Cruz Elevado

Para evaluar la conducta tipo ansiosa, realizamos la prueba del Laberinto en Cruz Elevado (EPM) 12 h después del último atracón de etanol. El EPM se basa en un equilibrio entre el miedo y la curiosidad hacia la novedad, y está diseñado para evaluar conductas relacionadas con la ansiedad en roedores (Cosquer et al., 2005; Pellow et al., 1985).

El EPM se realizó sobre dos brazos abiertos de plástico negro y gris (50 x 10 cm) y dos brazos cerrados perpendiculares del mismo tamaño pero con paredes opacas de 50 cm de altura. La unión de los cuatro brazos formaba una zona central cuadrada (10 cm²). El aparato estaba elevado 65 cm sobre el suelo. La intensidad de luz se ajustó a 20 lux. El día de la prueba, cada rata se colocó en la plataforma central mirando hacia un brazo cerrado y en posición opuesta al experimentador. Luego, el animal pudo explorar libremente el laberinto durante 5 min. Entre animales, el laberinto se limpió cuidadosamente con etanol al 5% para eliminar posibles olores. Una rata cayó inicialmente del EPM y fue excluida del análisis. El número de entradas y el tiempo empleado en todos los brazos fueron medidos me-

diante un sistema controlado por ordenador (Mazesoft-4) que registraba las interrupciones de haces infrarrojos situados a lo largo de cada brazo. El porcentaje de cada parámetro se calculó a partir del total de entradas en cualquier brazo y del tiempo total empleado en ambos tipos de brazos, respectivamente. Se consideró una visita siempre que el animal entrara en un brazo con las cuatro extremidades. La conducta tipo ansiosa se definió como una disminución en el número de entradas y del tiempo empleado en los brazos abiertos en relación con las entradas totales y el tiempo total, respectivamente.

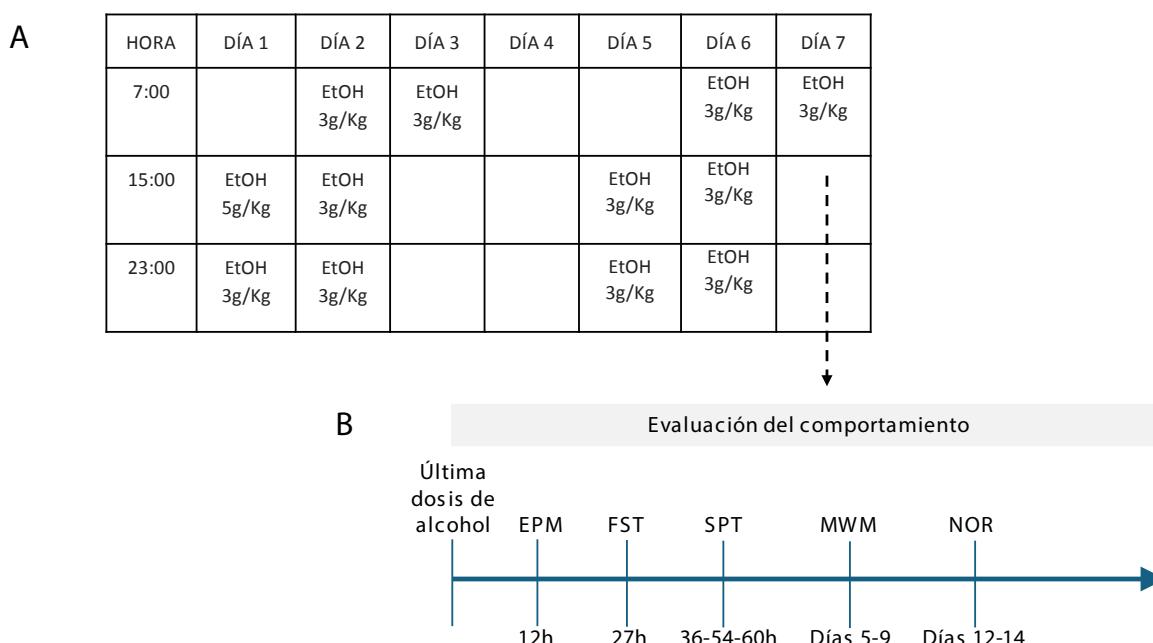
Conducta tipo depresiva: Prueba de Natación Forzada

La Prueba de Natación Forzada (FST) se basa en el método descrito por Porsolt (Porsolt et al., 1977) y es uno de los ensayos más comunes para el estudio de la conducta tipo depresiva en roedores (Slattery y Cryan, 2012; Yankelevitch-Yahav et al., 2015), aunque existen opiniones contradictorias (Armario, 2021).

Los animales fueron evaluados 27 h después de la última administración de etanol (ver Fig. 1 para el diseño experimental). Se colocaron individualmente en cilindros transparentes (47 x 35 cm) llenos de agua (25 ± 1°C) durante 5 min. Se analizaron conductas orientadas al escape, como nado (movimientos horizontales en el tanque), trepa (movimientos verticales de las patas delanteras), inmovilidad y latencia a la inmovilidad. Todos los ensayos se realizaron bajo luz roja

Figura 1

Representación esquemática del diseño experimental



Nota. A) Exposición intensiva al alcohol; los atracones fueron administrados por vía intragástrica, 3g/kg, excepto la dosis inicial que fue de 5 g/kg, cada 8 horas en un protocolo de 2 días ON-2 días OFF-2 días ON; **B)** Línea temporal de las pruebas de comportamiento. EtOH: etanol; **EPM**: elevated plus maze (laberinto en cruz elevado); **FST**: forced swimming test (test de natación forzada); **SPT**: saccharin preference test (test de preferencia por la sacarina); **MWM**: Morris water maze test (laberinto acuático de Morris); **NOR**: novel object recognition test (test de reconocimiento de objetos novedosos).

y fueron grabados para análisis posterior. Un aumento de la inmovilidad o una disminución en los tiempos de nado, escalada o latencia se consideraron indicativos de conducta depresiva, reflejando una falta de persistencia en el escape (Cryan et al., 2002; Detke et al., 1995).

Conducta anhedónica: Prueba de Preferencia por Sacarina

La Prueba de Preferencia por Sacarina (SPT) se utiliza para medir la sensibilidad a la recompensa en roedores (Scheggi et al., 2018). Una vez finalizado el FST, alrededor de 27 h tras el último atracón, los animales fueron secados con una toalla y alojados individualmente, con comida *ad libitum*. En cada jaula individual, se ofreció a las ratas una elección libre entre 2 botellas, una con sacarina al 0,1% (p/v) y otra con agua del grifo. Las botellas se pesaron para determinar el consumo de líquido y se colocaron en la jaula alternando la posición del agua y la sacarina para evitar preferencia por localización. El consumo de líquido se midió en momentos específicos de abstinencia desde el último atracón (36 h, 54 h, 60 h) y se calculó el consumo acumulado. La preferencia por sacarina se mostró como el porcentaje de sacarina consumida respecto al total de líquido ingerido. Una disminución en la preferencia por la solución dulce (recompensa natural) se considera una manifestación de anhedonia, un síntoma central de la conducta tipo depresiva (Scheggi et al., 2018; Slattery et al., 2007).

Memoria espacial: Laberinto Acuático de Morris

La prueba del Laberinto Acuático de Morris (MWM) se utiliza para medir el aprendizaje y la memoria espacial en roedores (Rendeiro et al., 2009). Esta prueba se llevó a cabo durante 5 días consecutivos en una piscina circular (diámetro 122 cm). El agua del tanque se volvió opaca con témpera blanca no tóxica (temperatura $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$). La piscina estaba en una sala con señales externas visibles y la intensidad de luz controlada. El experimentador también actuaba como señal. Una plataforma (diámetro 10 cm) estaba sumergida 1-2 cm bajo la superficie del agua en uno de los cuatro cuadrantes imaginarios iguales. Durante 4 días consecutivos, los animales fueron entrenados para encontrar la plataforma sumergida en una ubicación fija del MWM. Cada día consistía en 4 ensayos en los que los animales eran liberados mirando hacia la pared desde diferentes puntos. Cada ensayo tenía una latencia máxima de 60 s, en los que los animales exploraban libremente la piscina para alcanzar la plataforma. Todas las ratas permanecían en la plataforma 10 s más antes de ser retiradas del agua. Las latencias para encontrar la plataforma se registraron en cada ensayo y se calculó el promedio por día y animal. Tras cada ensayo, los animales eran secados y retornados a sus jaulas de origen.

El quinto día, la prueba se realizó sin la plataforma durante 60 s con una nueva posición de inicio en la piscina para asegurar

que los animales recordaran la localización objetivo y no una trayectoria específica. Aquí, se midió la latencia para alcanzar la localización previa de la plataforma, el número de cruces sobre dicha localización y el tiempo empleado dentro de un anillo imaginario (diámetro 30 cm) alrededor de donde había estado la plataforma. Todos los ensayos fueron grabados por una cámara situada encima de la piscina para su análisis posterior (Vorhees y Williams, 2006).

Memoria de reconocimiento: Prueba de Reconocimiento de Objetos

La Prueba de Reconocimiento de Objetos (NOR) se realizó para estudiar posibles alteraciones de memoria basadas en la tendencia de los roedores a interactuar más con un objeto nuevo que con uno familiar (Bevins y Besheer, 2006).

La prueba se realizó en un recinto cuadrado (80 x 80 x 42 cm) con paredes y suelo pintados en negro mate. El recinto se subdividió en 4 secciones iguales, permitiendo la evaluación simultánea de 4 ratas. El NOR se realizó de acuerdo con estudios previos (Marco et al., 2013; Moya et al., 2022) bajo condiciones de baja iluminación (20 lux). La prueba se organizó en tres fases: habituación (tiempo = 0), fase de entrenamiento (pre-test) y dos sesiones de prueba, a las 4 h y 24 h tras la fase de entrenamiento. Durante la habituación, los animales exploraron libremente la arena durante 5 min sin objetos. En la fase de entrenamiento, 2 objetos idénticos (botellas de vidrio) se colocaron en esquinas opuestas la arena, y los animales los exploraron libremente durante 3 min. En la sesión de prueba 4 h después del entrenamiento, uno de los objetos familiares (F, botella de vidrio) fue sustituido por un objeto nuevo (N1, cenicero verde), y las ratas exploraron ambos objetos durante 5 min. En la sesión de 24 h, el objeto nuevo N1 fue sustituido por otro objeto nuevo (N2, hucha), y las posiciones de los objetos se alternaron para evitar preferencias por localización. Tanto las sesiones de entrenamiento como las de prueba fueron grabadas en vídeo (Sony DCRDV-D310E, España). Se consideró exploración de un objeto cuando los animales dirigían el hocico hacia él a una distancia ≤ 1 cm, mientras que girar alrededor, trepar o morder los objetos no se consideró exploración. Se registró la latencia para explorar por primera vez el objeto nuevo en las sesiones de prueba y se calculó el índice de discriminación (DI) como la diferencia entre el tiempo explorando el objeto nuevo y el familiar en relación con el tiempo total de exploración de ambos objetos.

Análisis estadístico

Todos los datos se expresaron como media \pm S.E.M. y se analizaron mediante un análisis de varianza de dos vías (ANOVA de 2 vías), comparando los factores [alcohol/agua] frente a sexo [macho/hembra], cuando se verificó la normalidad; de lo contrario, se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis. La prueba de preferencia por sacarina se analizó mediante un ANOVA de tres vías con tiempo (36 h, 54 h, 60 h), tratamiento de alcohol (agua frente a alcohol) y sexo (machos vs. hembras) como factores independientes. Se reali-

zaron comparaciones *post hoc* (Bonferroni o Dunn) en caso de interacción significativa entre factores. La homocedasticidad se comprobó mediante la prueba de Barlett y los datos se transformaron (sqrt, log10) cuando fue necesario. Los valores outliers se excluyeron utilizando la prueba de Grubbs. Se estableció un valor $p < 0,05$ como umbral de significación estadística en todos los análisis. Todos los datos se analizaron utilizando GraphPad Prism versión 8.01 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

Aspectos éticos

Todos los protocolos han sido aprobados por el Comité de Bienestar Animal de la Universidad Complutense de Madrid (referencia: PROEX 312/19), siguiendo la legislación europea (2010/63/EU).

Resultados

Efectos sobre la ansiedad

En el EPM, observamos un aparente efecto opuesto del alcohol en machos y hembras frente a sus controles a las 12 h de abstinencia, en relación con el porcentaje de entradas en los brazos abiertos (Fig. 2A). La prueba de Kruskal-Wallis fue significativa (Kruskal-Wallis = 10,66, $p=0,0137$), y la prueba post hoc de Dunn sugirió una conducta ansiogena en los machos tratados con alcohol comparados con sus controles (tendencia, muy cercana a la significación ($p=0,055$)), que no

se observó en las hembras. De hecho, los datos en hembras parecen seguir el patrón opuesto y, a pesar de no existir diferencias significativas entre los grupos control y etanol en hembras, las ratas hembra tratadas con etanol entraron más en los brazos abiertos comparado con los machos tratados con etanol (Fig. 2A; $p=0,0168$).

Respecto al porcentaje de tiempo empleado en los brazos (Fig. 2B), el ANOVA de 2 vías mostró una interacción significativa entre etanol y sexo ($F_{(1,49)}=14,01$, $p=0,0005$) y un efecto principal de etanol ($F_{(1,49)}=7,290$, $p=0,0095$). Las comparaciones post hoc de Bonferroni revelaron una diferencia entre controles machos y hembras, con las hembras pasando menos tiempo en los brazos abiertos ($p<0,05$). La EIA indujo un efecto claramente ansiogena en los machos ($p<0,01$) pero no en las hembras ($p>0,05$, n.s.) en comparación con sus respectivos controles (Fig. 2B), como también sugirieron los datos mencionados en la Fig. 2A.

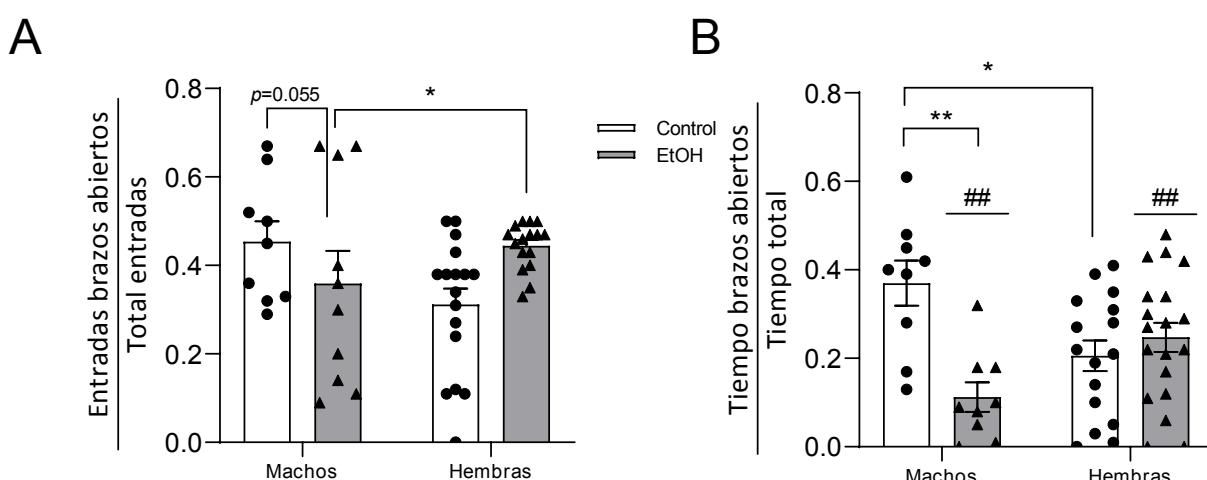
Efectos sobre la conducta tipo depresiva

En el FST, el tratamiento con atracones de etanol indujo reducciones en la latencia a la primera inmovilidad (Fig. 3A; $F_{(1,53)}=0,01111$, $p=0,0090$), sin diferencias por sexo, indicativo de una conducta tipo depresiva durante la abstinencia temprana de alcohol (~27 h).

La interacción entre factores (tratamiento y sexo) estuvo en el límite de la significación para la inmovilidad (Fig. 3B; $F_{(1,53)}=3,964$, $p=0,0517$) y fue significativa para el tiempo de

Figura 2

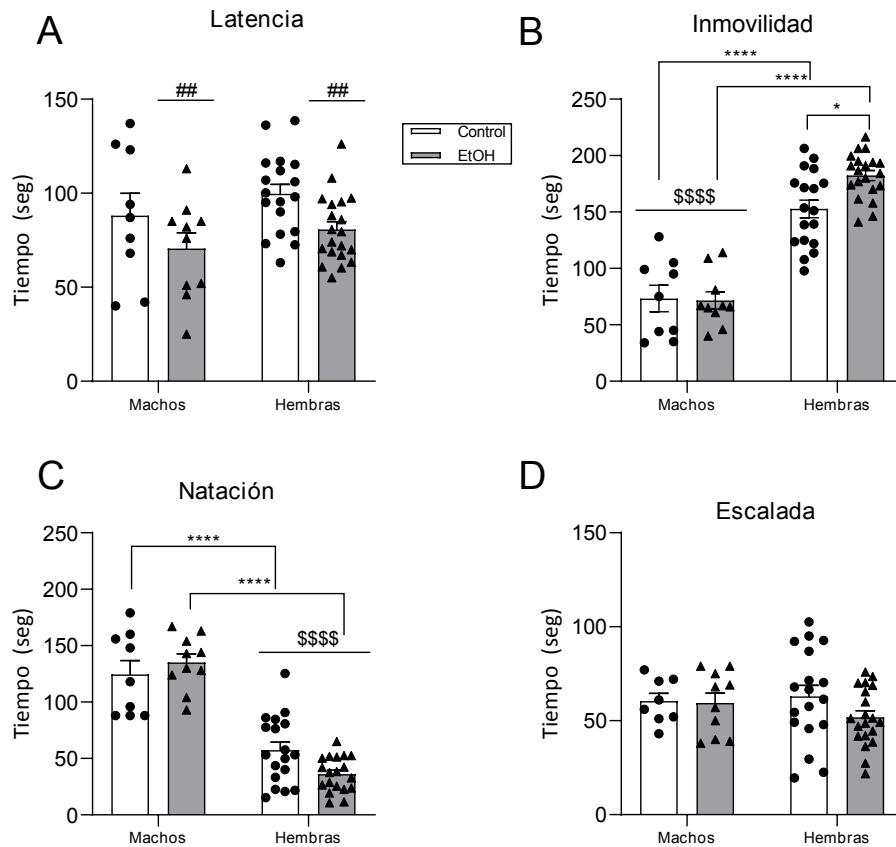
Test del laberinto en cruz elevada (EPM) para evaluar el comportamiento similar a la ansiedad en machos y hembras



Nota. A) Ratio de entradas en los brazos abiertos sobre el total de entradas; B) Ratio del tiempo pasado en los brazos abiertos sobre el total de tiempo pasado en ambos brazos. Los animales fueron evaluados 12h después de la última administración de alcohol. Los resultados representan la media ± S.E.M. (n=9-10 los machos y n=18-20 las hembras; agrupación de sujetos de dos experimentos idénticos). Análisis no paramétrico Kruskal-Wallis seguido de la prueba *post hoc* de Dunn (A): * $p < 0,05$. ANOVA de dos vías (B): Interacción medida por la prueba *post hoc* de Bonferroni (Fig. 2A): * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$. Efecto principal del alcohol (EtOH): ## $p < 0,001$.

Figura 3

Test de natación forzada (FST) para evaluar el comportamiento de tipo depresivo



Nota. A) Latencia a la inmovilidad; B) Tiempo de inmovilidad; C) Tiempo de natación; D) Tiempo de escalada. Los animales fueron evaluados con esta prueba en torno a 27h después de la última administración de alcohol. Los resultados representan la media \pm S.E.M. ($n=9-10$ los machos y $n=18-20$ las hembras = sujetos agrupados procedentes de dos experimentos idénticos). ANOVA de dos vías: Efecto principal del alcohol (EtOH) $^{##}p < 0,001$; efecto principal del sexo $^{$$$$}p < 0,0001$; interacción tras *post hoc* de Bonferroni: las hembras tratadas con alcohol difieren de las hembras control * $p < 0,05$; las hembras difieren de los machos * $p < 0,0001$.

nado (Fig. 3C; $F_{(1,52)}=4,622$, $p=0,0362$), con pruebas post hoc de Bonferroni indicando que las hembras tratadas con etanol podrían tener mayor inmovilidad frente a sus controles hembras ($p<0,05$). Un efecto principal del sexo para la inmovilidad y el nado ($F_{(1,53)}=146,1$, $p<0,0001$ y $F_{(1,52)}=126,5$, $p<0,0001$, respectivamente) indicó que las hembras mostraron mayor duración de inmovilidad y menor tiempo de nado, un efecto también mostrado tras la prueba post hoc de Bonferroni (Fig. 3B, $p<0,0001$; Fig. 3C, $p<0,0001$, respectivamente).

No se observaron diferencias en los tiempos de escalada entre grupos experimentales (Fig. 3D; efecto principal EtOH: $F_{(1,52)}=1,241$, $p=0,2705$; efecto principal Sexo: $F_{(1,52)}=0,2063$, $p=0,6516$; interacción entre factores: $F_{(1,52)}=0,8724$, $p=0,3546$).

Efectos sobre el estado motivacional negativo o anhedonia

El SPT comenzó 27 h después de la última exposición a atracones y registramos el consumo acumulado durante las 36 h, 54 h y 60 h de abstinencia alcohólica (Fig. 4). El ANOVA de 3 vías de medidas repetidas, comparando tratamiento, sexo

y tiempo, encontró efectos principales del tiempo de abstinencia ($F_{(1,768,85,73)}=4,034$, $p=0,0255$) y del sexo ($F_{(1,52)}=55,90$, $p<0,0001$), siendo las hembras el sexo que mostró mayor preferencia por la sacarina a lo largo del tiempo. Dado que el ANOVA de 3 vías indicó una interacción entre tiempo y sexo ($F_{(2,97)}=3,191$, $p=0,0455$) independientemente del tratamiento con etanol, realizamos un ANOVA de 2 vías (tiempo x sexo) y la prueba post hoc de Bonferroni confirmó que las hembras mostraron mayores preferencias a las 36 h ($p<0,0001$), 54 h ($p<0,001$) y 60 h ($p<0,0001$) (Fig. 3).

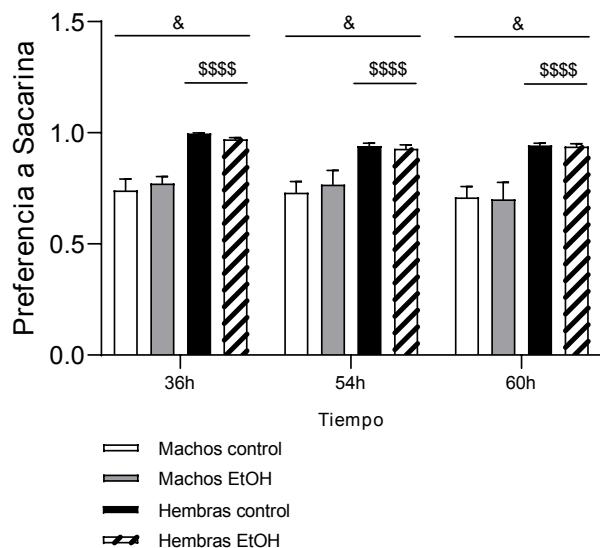
A pesar de estas diferencias, en los tiempos de evaluación en este experimento los posibles efectos de la IAE sobre la conducta anhedónica no fueron evidentes, ya que no encontramos efectos del alcohol en machos ni en hembras frente a sus respectivos controles en ningún momento evaluado ($p > 0,05$, n.s.).

Efectos sobre la memoria espacial

Para estudiar si el consumo de alcohol afectaba al aprendizaje y la memoria espacial de manera diferencial en machos y hembras, realizamos la prueba de MWM. Durante la curva

Figura 4

Test de preferencia por la sacarina (SPT) para evaluar la anhedonia



Nota. La preferencia por la sacarina fue calculada como el porcentaje de sacarina consumida sobre el total de líquido consumido. Se evaluó el consumo acumulado de los animales, iniciando en torno a las 27h después de la última administración de alcohol y tomando medidas a las 36h, 54h y 60h de abstinencia de alcohol. Los resultados representan la media ± S.E.M. (n=9-10 los machos y n=18-20 las hembras = agrupación de sujetos de dos experimentos idénticos). ANOVA de 3 vías de medidas repetidas (sexo x tratamiento x tiempo): efecto principal del sexo: efecto \$\$\$\$ $p < 0,0001$; efecto principal del tiempo & $p < 0,05$; interacción (tiempo x sexo) (no representado en la figura).

de aprendizaje, no hubo diferencias significativas ningún día entre los grupos (Fig. 5A) y el tiempo necesario para encontrar la plataforma disminuyó conforme avanzaron las sesiones para todos los sujetos.

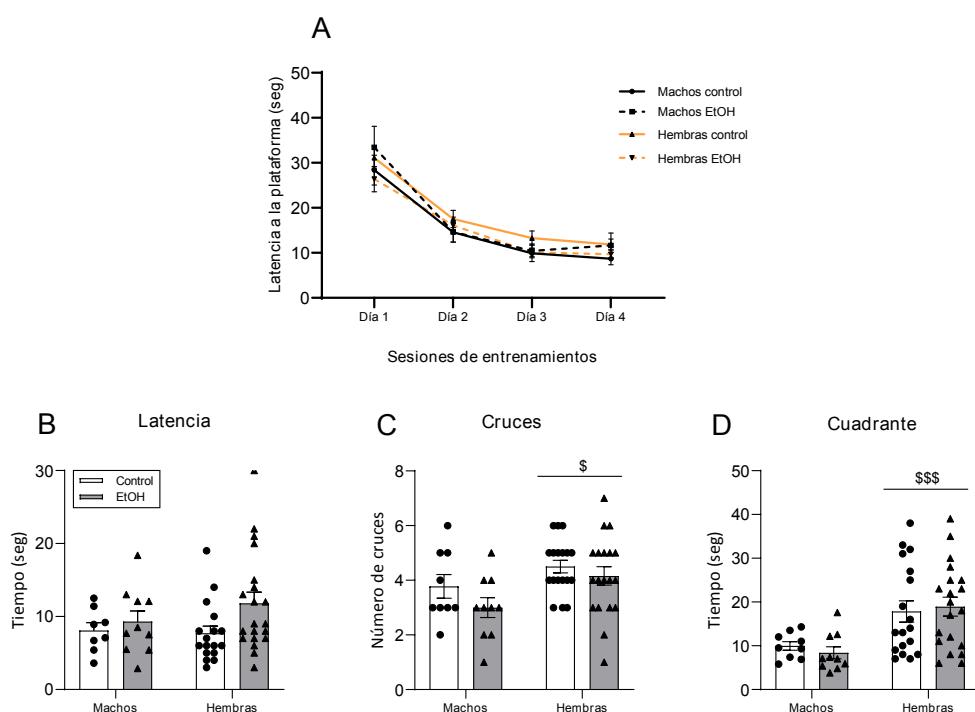
En la prueba de referencia, no observamos efectos significativos de los atracones de alcohol en las variables de latencia, cruces o exploración del cuadrante en la prueba (Fig. 5B,C,D; $F_{(1,51)}=3,051$, $p=0,0867$; $F_{(1,52)}=2,535$, $p=0,1174$; $F_{(1,53)}=0,009591$, $p=0,9224$, respectivamente), aunque se observó una tendencia a una mayor latencia en hembras tratadas con etanol frente a sus controles (Fig. 5B, $p=0,0867$, n.s.). Sin embargo, hubo un efecto principal del sexo en los cruces sobre la plataforma y el tiempo de nado alrededor del cuadrante de localización de la plataforma (Fig. 5C,D; $F_{(1,52)}=7,144$, $p=0,0100$; $F_{(1,53)}=14,76$, $p=0,0003$, respectivamente), con mayores valores en hembras que en machos.

Efectos sobre la memoria de reconocimiento

En el NOR, observamos un efecto principal del alcohol en la latencia al primer acercamiento al objeto nuevo 4 h después de la fase de entrenamiento (Fig. 6A, $F_{(1,46)}=4,491$, $p=0,0395$), ya que tanto machos como hembras tratadas con etanol mostraron mayores latencias que los controles, indicativo de alteraciones en la memoria a corto plazo. La interacción entre factores (sexo x tratamiento) estuvo cerca de la significación ($F_{(1,46)}=3,551$, $p=0,065$), sugiriendo que el efecto del alcohol podría ser más fuerte en machos (Fig. 6A). No hubo efecto principal del sexo ($F_{(1,46)}=0,8515$, $p=0,3609$). En cuanto al

Figura 5

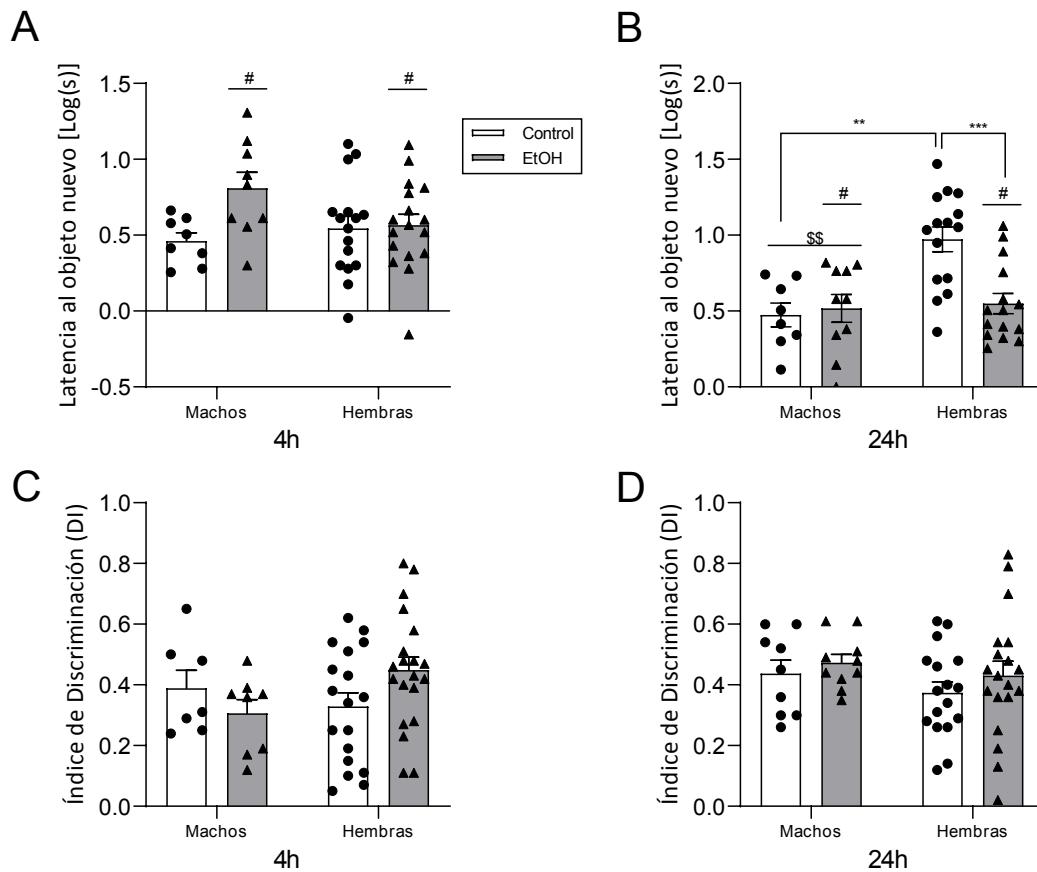
Laberinto acuático de Morris (MWM) para evaluar la memoria especial



Nota. A) Curva de aprendizaje incluyendo el promedio de cada grupo experimental durante los cuatro ensayos. B) Latencia para encontrar la ubicación de la plataforma. C) Número de cruces sobre la localización de la plataforma. D) Tiempo de nado en torno al cuadrante de la plataforma. Los resultados representan la media ± S.E.M. ANOVA de dos vías: efecto principal del sexo * $p < 0,05$, ** $p < 0,0001$.

Figura 6

Prueba de reconocimiento de objetos (NOR) para evaluar la memoria de reconocimiento



Nota. A) Latencia de exploración del objeto nuevo a las 4h. B) Latencia de exploración del objeto nuevo a las 24h. C) Índice de discriminación a las 4h. D) Índice de discriminación a las 24h. Los resultados representan la media \pm S.E.M. ANOVA de dos vías: efecto principal del EtOH ${}^{\#}p < 0,05$; efecto principal del sexo ${}^{**}p < 0,001$; interacción medida por la prueba *post hoc* de Bonferroni: ${}^{**}p < 0,001$, ${}^{***}p < 0,0001$.

DI, la interacción estuvo nuevamente cerca de la significación (Fig. 6C; $F_{(1,49)}=3,399$, $p=0,0713$, n.s.) y no se encontraron efectos principales del alcohol o del sexo ($F_{(1,49)}=0,1159$, $p=0,7350$; $F_{(1,49)}=0,5682$, $p=0,4546$, respectivamente).

A largo plazo, 24 h después de la fase de entrenamiento, el ANOVA de 2 vías reveló efectos principales de etanol y sexo (Fig. 6B; $F_{(1,44)}=5,153$, $p=0,0282$; $F_{(1,44)}=10,09$, $p=0,0027$, respectivamente) con una interacción entre factores ($F_{(1,44)}=7,816$, $p=0,0076$). Las comparaciones post hoc revelaron que los animales control hembra tuvieron mayores latencias a las 24 h para explorar el objeto nuevo que los controles machos ($p<0,01$). En la prueba a largo plazo, solo las hembras tratadas con etanol mostraron una reducción en la latencia frente a sus controles hembra ($p<0,001$) (Fig. 6B). En cuanto al DI, el ANOVA de 2 vías no mostró interacción entre factores (Fig. 6D; $F_{(1,51)}=0,04861$, $p=0,8264$), ni efectos principales de etanol o sexo 24 h después del entrenamiento (Fig. 6D; $F_{(1,51)}=1,037$, $p=0,3132$; $F_{(1,51)}=1,330$, $p=0,2541$, respectivamente).

En conjunto, el análisis de latencia en el NOR revela un patrón de comportamiento diferente en machos y hembras en

las pruebas a corto y largo plazo. La EIA parece afectar negativamente la memoria a corto plazo en ambos sexos (Fig. 6A), mientras que a largo plazo la EIA induce el efecto contrario (disminución en la latencia) solo en las hembras (Fig. 6B).

Discusión

Este estudio explora los efectos diferenciales de la exposición a atracones de alcohol en ratas macho y hembra durante la adultez temprana. Al centrarse tanto en comportamientos cognitivos como emocionales, pretende descubrir diferencias específicas por sexo que configuran el comportamiento animal en condiciones fisiológicas (control) en varias pruebas ampliamente utilizadas en estudios preclínicos, así como el impacto de la EIA durante la adultez temprana desde esta perspectiva de sexo. Nuestros resultados sugieren algunas diferencias por sexo tanto en condiciones control como de etanol dependiendo de la prueba, destacando la imperiosa necesidad de incluir ambos sexos en cualquier estudio preclínico que evalúe el comportamiento emocional y

cognitivo en animales. Las implicaciones de estas diferencias se discuten a continuación.

Diferencias por sexo en el comportamiento en condiciones fisiológicas (control)

En términos de estado emocional, se observaron diferencias por sexo en las conductas de tipo ansiosa y depresiva en condiciones control, según lo mostrado por el rendimiento de los animales en el EPM y el FST. El EPM es una prueba ampliamente utilizada para evaluar la conducta tipo ansiosa en roedores. Estas tareas explotan el conflicto entre el impulso exploratorio de los roedores y su tendencia a evitar los espacios abiertos (Campbell et al., 2024; Chen et al., 2024; Donner y Lowry, 2013). Nuestros resultados indican que las hembras pasan significativamente menos tiempo en los brazos abiertos del EPM en comparación con los machos en condiciones normales. Aunque la literatura generalmente establece que las hembras tienden a exhibir un comportamiento menos ansioso, mostrando más interés en las áreas abiertas que los machos (Campbell et al., 2024), muchos autores proponen que las diferencias sexuales en este patrón conductual pueden reflejar estrategias alternativas de afrontamiento o exploración ambiental, más que verdaderos comportamientos relacionados con la ansiedad (Donner y Lowry, 2013).

El FST y el SPT son métodos estándar para evaluar los efectos antidepresivos en roedores (Scheggi et al., 2018; Slattery et al., 2007), aunque la utilidad del FST para este propósito ha sido cuestionada recientemente (Armario, 2021). En el FST, las conductas de nado y escalada representan la respuesta adaptativa del animal ante una situación adversa, sugiriendo que la ausencia de estas conductas o una mayor tendencia a la inmovilidad son indicadores de desesperanza conductual o comportamiento tipo depresivo (Dalla et al., 2010). Por otro lado, el SPT evalúa la conducta motivacional. Parte del supuesto de que los animales consumirán más sacarina debido a sus propiedades hedónicas, y la disminución en la preferencia por ella (una recompensa natural) representa anhedonia, un síntoma central de la depresión, inducido por diferentes estresores (Campbell et al., 2024; Sayd et al., 2015). Es común encontrar diferencias por sexo relacionadas con el estado emocional basal en la literatura, indicando que las hembras muestran más conductas tipo depresivas comparadas con los machos en tareas como el FST (Dalla et al., 2010), en consonancia con nuestros resultados. No obstante, los resultados en tareas relacionadas con la conducta tipo depresiva son inconsistentes; como señalan Kokras et al. (2015), en el FST, un tercio de los estudios muestra mayor inmovilidad en hembras, como mostramos aquí, un tercio en machos (Pavlova et al., 2020; Xia et al., 2023) y un tercio no encuentra diferencias por sexo. Por el contrario, en el SPT, las hembras parecen mostrar una mayor preferencia por la sacarina, tanto en nuestro estudio como en trabajos previos, exhibiendo un impacto diferente en el sistema de recompensas,

sa, lo que cuestiona el uso de estas pruebas como medida de comportamiento depresivo (Dalla et al., 2010; Kokras et al., 2015). Esto subraya la necesidad de validar tareas representativas que describan correctamente las diferencias conductuales entre animales macho y hembra, para poder traducir los resultados al comportamiento humano.

Respecto al rendimiento cognitivo, el MWM proporciona información sobre la capacidad de aprendizaje y memoria espacial mediante medidas como el tiempo que tarda el animal en encontrar la plataforma o el tiempo que pasa nadando alrededor de ella (Zorzo et al., 2024). Aunque la mayoría de los trabajos previos comparando machos y hembras en navegación espacial han encontrado una superioridad en el rendimiento de los machos (Bowman et al., 2022; Gutiérrez-Menéndez et al., 2023; Zorzo et al., 2024), en nuestro estudio no se encontraron diferencias por sexo durante la fase de aprendizaje, en línea con investigaciones previas (Qi et al., 2016), aunque en el día de la prueba las hembras mostraron más cruces y tiempo de nado alrededor de la plataforma que los machos. Estudios neurobiológicos relacionados con esta capacidad han descrito diferentes estrategias utilizadas por ambos grupos; los machos tienden a apoyarse en estrategias espaciales globales, mientras que las hembras parecen favorecer señales espaciales del entorno (Shansky, 2018; Zorzo et al., 2024). El elevado número de señales visuales dispuestas en nuestro montaje experimental podría haber favorecido el rendimiento de las hembras.

Otra función cognitiva relacionada con la memoria es la capacidad de reconocer objetos nuevos. El NOR permite evaluar esta habilidad obteniendo medidas de la latencia de aproximación y el índice de discriminación del objeto novedoso, tanto a corto plazo (4 h después de la fase de entrenamiento) como a largo plazo (24 h después de la fase de entrenamiento) (Marco et al., 2013; Moya et al., 2022). Nuestros resultados sugieren que no hay diferencias en el rendimiento de machos y hembras control en esta prueba a corto plazo, aunque las hembras rinden peor a largo plazo. La ausencia de diferencias sexuales en la memoria de reconocimiento coincide con la mayoría de los estudios (Campbell et al., 2024; Van Hees et al., 2022) y solo algunos trabajos describen una ligera superioridad de las hembras, en distintas fases del ciclo estral (Koszałka et al., 2023; van Goethem et al., 2012).

Diferencias por sexo en los efectos de la exposición intensiva al alcohol

La mayoría de los estudios que exploran diferencias por sexo en el consumo de alcohol se realizaron en ratones C57BL/6J, con paradigmas de acceso intermitente y voluntario —como el paradigma de elección entre dos botellas o el “drinking in the dark” (DID)—, en los que se estudian los efectos del consumo a largo plazo (Ardinger et al., 2024; Leonardo Jimenez Chavez et al., 2020; Magee et al., 2024; Maldonado-Devincenzi et al., 2022; Rath et al., 2020; Rivera-Irizarry et al., 2023). En ratas, existen estudios de consumo voluntario de alcohol

Tabla 1

Resumen de las diferencias sexuales en el comportamiento en condiciones fisiológicas (control)

Pruebas de comportamiento	Diferencias sexuales en animales control
EPM	Las hembras pasan menos tiempo en los brazos abiertos en comparación con los machos.
FST	Las hembras pasan menos tiempo nadando y más tiempo inmóviles que los machos.
SPT	Las hembras exhiben mayor preferencia por la sacarina que los machos.
MWM	No aparecen diferentes durante la fase de aprendizaje; en la prueba de referencia las hembras cruzan más veces y nadan durante más tiempo en torno a la ubicación de la plataforma que los machos.
NOR	No hay diferencias a las 4h; las hembras muestran peor rendimiento a las 24h.

mediante el paradigma de dos botellas (Abderrahim et al., 2022; Albrechet-Souza et al., 2020; Buján et al., 2024). Solo unos pocos estudios con perspectiva de sexo emplearon la administración intragástrica de etanol, generalmente durante períodos largos, y los resultados siguen siendo mixtos (Healey et al., 2023; Jia et al., 2024; Penta et al., 2024; Varlinskaya et al., 2020). Hasta donde sabemos, ninguna investigación previa ha examinado diferencias sexuales en la EIA con este protocolo específico de administración, empleando dosis altas de etanol en un periodo corto de tiempo. Nuestros resultados sugieren que la exposición forzada a atracones de alcohol afecta de forma diferente a ratas macho y hembra solo en algunas pruebas, que se discuten a continuación.

Nuestros resultados mostraron que el efecto de la EIA sobre la ansiedad en el EPM fue claro para los machos, en concordancia con nuestros estudios previos con este modelo animal (Antón et al., 2017), pero este efecto no está presente en las hembras tratadas con etanol, que no mostraron diferencias con sus controles hembra. Cabe señalar que las hembras tratadas con etanol mostraron una tendencia en dirección opuesta (efecto ansiolítico), y esta posible diferencia sexual también ha sido destacada por otros autores utilizando otros paradigmas de administración de etanol (Albrechet-Souza et al., 2020; Buján et al., 2024; Costa-Valle et al., 2022).

Además de esto, nuestro estudio aporta evidencia de que la exposición en atracón tiene efectos depresivos en ambos sexos, pero predominantemente en las hembras, que muestran mayores tiempos de inmovilidad en el FST, en concordancia con otros estudios. La conducta tipo depresiva inducida por el alcohol durante la abstinencia en machos concuerda con nuestros datos previos utilizando este modelo CAA (Antón et al., 2017) y con estudios empleando exposición a vapor de etanol (Bach et al., 2021; Walker et al., 2010).

Las reducciones en la preferencia por la sacarina en el SPT se relacionarían con este efecto depresivo. Sin embargo,

en nuestro estudio no encontramos efectos de la EIA en esta prueba. Hemos observado previamente que un estado inflamatorio inducido por la administración de lipopolisacáridos, que se sabe que aumenta después de la EIA (Antón et al., 2017, 2018), induce un estado anhedónico en machos (Sayd et al., 2015), pero no habíamos evaluado antes a los animales bajo este modelo de EIA. Es posible que el periodo de abstinencia al inicio de la prueba fuera demasiado tardío para observar este efecto, ya que la disminución en la preferencia por sacarina depende en gran medida del estado inflamatorio del animal (Abderrahim et al., 2022; Sayd et al., 2015).

En términos de la función cognitiva evaluada en el MWM, en nuestro estudio no observamos efectos significativos del alcohol sobre la memoria espacial, aunque se observó una tendencia (no significativa) en las hembras tratadas con etanol, que mostraron una aparente mayor latencia en el tiempo requerido para localizar la plataforma. Otros estudios describieron efectos negativos del alcohol sobre la memoria espacial en machos siguiendo un protocolo de acceso intermitente y voluntario al alcohol (Sanz-Martos et al., 2023), aunque en nuestro estudio no se observaron efectos del etanol en los machos.

En el NOR, encontramos que los grupos tratados con etanol muestran comportamientos diferentes en las dos sesiones de prueba, a las 4 h y 24 h después de la fase de entrenamiento. A las 4 h, el alcohol muestra efectos significativos en ambos sexos, aumentando la latencia de aproximación al objeto novedoso, con un posible efecto más fuerte en machos (tendencia; interacción no significativa $p=0,06$). Sin embargo, a las 24 h, los machos tratados con alcohol experimentan un aumento en la latencia, como sucedió en el corto plazo, pero las hembras exhibieron una menor latencia respecto a su grupo control hembra. Este efecto fue sorprendente y podría estar favorecido por los altos tiempos de latencia observados en las hembras control. Otros autores han mostrado que diferentes paradigmas de administración de etanol tienen efectos negativos sobre la capacidad de reconocer objetos medida mediante esta tarea (Lamont et al., 2020; Moya et al., 2022), pero no se han descrito diferencias sexuales (Van Hees et al., 2022). Estos resultados en hembras necesitan ser confirmados en estudios futuros, y debe explorarse el posible papel de la EIA en la consolidación de la memoria a largo plazo.

En conjunto, estos resultados sugieren que muchas pruebas conductuales que se han utilizado ampliamente hasta la fecha para evaluar tareas emocionales y cognitivas en modelos animales preclínicos pueden ser ejecutadas de manera diferente por machos y hembras en condiciones fisiológicas, lo que tiene implicaciones para una extrapolación adecuada de los resultados. Machos y hembras difieren biológicamente en varios aspectos, incluido el perfil hormonal. Numerosos estudios han demostrado la influencia crítica de las hormonas en la regulación del comportamiento (Hamson et al., 2016; Shirazi et al., 2021), por lo que este podría ser un factor que contribuya a las variaciones observadas entre resultados de machos y hembras. Es importante señalar que la adolescencia y la adultez tem-

Tabla 2

Resumen de las diferencias sexuales en el comportamiento después del EIA

Pruebas de comportamiento	Diferencias sexuales en los animales tratados con alcohol
EPM	Los machos tratados con alcohol entran menos veces y pasan menos tiempo en los brazos abiertos en comparación con su grupo control, mientras que este efecto no se observa en las hembras.
FST	Las hembras tratadas con alcohol pasan más tiempo inmóviles que las hembras control, mientras que este efecto no se observa en machos.
NOR	En el ensayo a largo plazo, el alcohol mejora el rendimiento de las hembras en comparación con sus controles, mientras que este efecto no se observa en machos.

prana son períodos cruciales para la maduración, durante los cuales los niveles hormonales fluctúan significativamente con el tiempo y varían por sexo, desempeñando un papel clave en el desarrollo neurobiológico (Vijayakumar et al., 2018). Hormonas sexuales como el estradiol (predominante en hembras) y la testosterona (predominante en machos) ejercen efectos distintos sobre el desarrollo cerebral adolescente. Evidencias recientes sugieren que el estradiol mejora la neurogénesis y la plasticidad en regiones como el hipocampo, lo que podría estar relacionado con el rendimiento superior de las hembras en el MWM. En contraste, niveles elevados de testosterona parecen estar asociados con una mayor sensibilidad al refuerzo y una mayor propensión a conductas de riesgo, lo que podría explicar las diferencias sexuales observadas en la preferencia por sacarina y el comportamiento exploratorio en el EPM (Erol y Karpyak, 2015; He et al., 2024).

Por otro lado, los efectos de la EIA pueden inducir efectos diferenciales en machos y hembras; por ejemplo, los atracones de alcohol indujeron un claro efecto ansiógeno en los machos en el EPM y empeoraron la capacidad de reconocimiento en el NOR, en consonancia con la literatura previa, mientras que la EIA parece tener un efecto más desinhibitorio en el rendimiento en el EPM en hembras en el mismo período de abstinencia y un efecto potenciador de la memoria de reconocimiento en la NOR, lo cual es intrigante y merece mayor investigación. Algunos autores sugieren que las fluctuaciones hormonales a lo largo de las fases del ciclo estral influyen tanto en el comportamiento animal como en los efectos de la exposición al alcohol (Corbett et al., 2024; Klein Marcondes et al., 2001; Paiva-Santos et al., 2022; Scholl et al., 2019; Sircar, 2019). La evidencia científica también sugiere que el consumo de alcohol puede alterar los niveles circulantes de hormonas sexuales. Por ejemplo, la intoxicación alcohólica aguda, como la observada en la EIA, se asocia con una disminución en los niveles de testosterona. Dado que la testosterona se ha asociado con una mayor propensión a conductas de riesgo, las reducciones inducidas por el etanol en el

número de entradas y en el tiempo en los brazos abiertos en el EPM podrían explicarse parcialmente por este efecto. En nuestro estudio no exploramos el ciclo estral de las hembras ni los niveles hormonales, por lo que esta hipótesis sigue siendo especulativa y requiere más experimentación.

Además, algunos autores sugieren que las diferencias hormonales relacionadas con el sexo pueden interferir con el metabolismo del alcohol, afectando su absorción y distribución en el organismo, lo que finalmente conduce a efectos conductuales distintos (Erol y Karpyak, 2015). En este sentido, algunos autores han sugerido que las hembras tienen un metabolismo del alcohol más rápido que los machos (Baraona et al., 2001; Desroches et al., 1995; Kishimoto et al., 2002; Thomasson, 2002). La eliminación más rápida del alcohol por parte de las hembras podría deberse a una mayor actividad de enzimas hepáticas (Kishimoto et al., 2002; Elena Quintanilla et al., 2007; Simon et al., 2002), aunque otros autores no encontraron diferencias (Livy et al., 2003; Lopez et al., 2003). Estas diferencias sexuales en el metabolismo del alcohol podrían explicar algunas de las discrepancias conductuales que la EIA indujo en machos y hembras en nuestro estudio. En estos experimentos no medimos BELs ni enzimas hepáticas, por lo que no podemos confirmar esta hipótesis, y esta es una limitación del estudio.

Recientemente, se ha demostrado que el patrón de EIA utilizado en este estudio afecta la microbiota intestinal, la integridad de la barrera intestinal, provocando la translocación de patógenos hacia la circulación sistémica y desencadenando una respuesta inflamatoria periférica y la disruptión de la barrera hematoencefálica que contribuye a la neuroinflamación inducida por alcohol, lo cual está relacionado con alteraciones emocionales y cognitivas (Antón et al., 2018; Orio et al., 2019; Orio, 2020; Rodriguez-Gonzalez y Orio, 2020; Rodriguez-Gonzalez et al., 2021; Rodriguez-Gonzalez et al., 2023).

Investigaciones específicas sobre la microbiota han mostrado que las hormonas sexuales y la dieta afectan la proliferación de diferentes comunidades microbianas, que a su vez impactan en el sistema inmunitario, siendo estas diferencias más evidentes durante la adolescencia (Org et al., 2016). La mayoría de los estudios mencionados se han realizado en machos y solo recientemente disponemos de algunos datos sobre el impacto diferencial de este protocolo de EIA en el eje intestino-cerebro de machos y hembras (López-Valencia et al., 2024). En cualquier caso, el CAA parece afectar el rendimiento cognitivo de manera diferente en hombres y mujeres jóvenes (Lees et al., 2019), lo cual podría estar relacionado con componentes inflamatorios (Orio et al., 2018).

A pesar de aportar datos interesantes sobre posibles diferencias por sexo en el comportamiento, reconocemos varias limitaciones del estudio actual. Primero, aunque las pruebas conductuales utilizadas en este estudio están ampliamente descritas en la literatura y se administraron secuencialmente según un diseño para evitar interferencias entre pruebas (Moya et al., 2022; Moya et al., 2021; Marco et al., 2017), debe te-

nerse en cuenta que la mayoría de ellas fueron validadas en machos, por lo que es posible que su interpretación en hembras esté sesgada y no podamos descartar interferencias en los animales hembra. En segundo lugar, este es un estudio que se centra exclusivamente en el comportamiento; la ausencia de medidas bioquímicas como BELs, hormonas o enzimas hepáticas limita la interpretación de los resultados. Finalmente, una limitación intrínseca del uso de este modelo de EIA es que no permite identificar diferencias significativas en el patrón de consumo en atracón entre machos y hembras (mayor en hembras), lo que compromete el carácter traslacional del estudio.

Nuestros hallazgos destacan la importancia de una caracterización rigurosa de las pruebas ampliamente utilizadas para evaluar el comportamiento en modelos animales preclínicos, considerando el rendimiento diferencial de las hembras en algunas de estas pruebas, para mejorar la relevancia traslacional de la investigación. En términos de valor traslacional, visibilizar las diferencias específicas por sexo en los efectos de la EIA durante la adultez temprana es fundamental para cuestionar la suposición de que el alcohol ejerce efectos idénticos en ambos sexos, rompiendo la perspectiva homogénea que aún persiste respecto a sus mecanismos de acción, toxicidad, prevención y tratamiento. Así, la incorporación de una perspectiva basada en el sexo en futuras investigaciones es vital para la detección temprana de problemas relacionados con el alcohol en ambos sexos, así como para orientar el diseño de intervenciones más efectivas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (España), cofinanciado por FEDER (Unión Europea) (número de proyecto PID2021-127256OB-I00 para L.O.) y por RICORS – RIAPAd (proyecto RD24/0003/0010 para L.O.), cofinanciado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y por la Unión Europea (Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER).

Conflictó de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Abderrahim, L., Hicham, E. M., Aboubaker, E., Fatima, A., Tarik, T., Soufiane, B. y Abdelhalim, M. (2022). Sex differences in behavioral, cognitive and voluntary ethanol-intake effects in Dexamethasone-induced depression-like state in Wistar rat. *AIMS Neuroscience*, 30(7), 228–249. <https://doi.org/10.3934/neuroscience.2022012>
- Albrechet-Souza, L., Schratz, C. L. y Gilpin, N. W. (2020). Sex differences in traumatic stress reactivity in rats with and without a history of alcohol drinking. *Biology of Sex Differences*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13293-020-00303-w>
- Antón, M., Alén, F., Gómez de Heras, R., Serrano, A., Pavón, F. J., Leza, J. C., García-Bueno, B., Rodríguez de Fonseca, F. y Orio, L. (2017). Oleylethanolamide prevents neuroimmune HMGB1/TLR4/NF- κ B danger signaling in rat frontal cortex and depressive-like behavior induced by ethanol binge administration. *Addict. Biol.*, 22(3), 724–741. <https://doi.org/10.1111/adb.12365>
- Antón, M., Rodríguez-González, A., Ballesta, A., González, N., Del Pozo, A., de Fonseca, F.R., Gómez-Lus, M.L., Leza, J.C., García-Bueno, B., Caso, J.R. y Orio, L. (2018). Alcohol binge disrupts the rat intestinal barrier: the partial protective role of oleylethanolamide. *Br J Pharmacol.*, 175(24), 4464-4479. <https://doi.org/10.1111/bph.14501>
- Ardinger, C. E., Chen, Y., Kimbrough, A., Grahame, N. J. y Lapish, C. C. (2024). Sex differences in neural networks recruited by frontloaded binge alcohol drinking. *Addiction Biology*, 29(9). <https://doi.org/10.1111/adb.13434>
- Armario, A. (2021). The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 128, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.014>
- Bach, E. C., Morgan, J. W., Ewin, S. E., Barth, S. H., Raab-Graham, K. F. y Weiner, J. L. (2021). Chronic Ethanol Exposures Leads to a Negative Affective State in Female Rats That Is Accompanied by a Paradoxical Decrease in Ventral Hippocampus Excitability. *Frontiers in Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.669075>
- Baraona, E., Abittan, C. S., Dohmen, K., Moretti, M., Pozzato, G., Chayes, Z. W., Schaefer, C. y Lieber, C. S. (2001). Gender differences in pharmacokinetics of alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25(4), 502–507. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2001.tb02242.x>
- Bevins, R. A. y Besheer, J. (2006). Object recognition in rats and mice: A one-trial non-matching-to-sample learning task to study “recognition memory.” *Nature Protocols*, 1(3), 1306–1311. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.205>
- Bowman, R., Frankfurt, M. y Luine, V. (2022). Sex differences in cognition following variations in endocrine status. In *Learning and Memory* (Vol. 29, Issue 9, pp. 234–245). Cold Spring Harbor Laboratory Press. <https://doi.org/10.1101/lm.053509.121>
- Buján, G. E., D’Alessio, L., Serra, H. A., Guelman, L. R. y Molina, S. J. (2024). Assessment of Hippocampal-Related Behavioral Changes in Adolescent Rats of both Sexes Following Voluntary Intermittent Ethanol Intake and Noise Exposure: A Putative Underlying Mechanism and Implementation of a Non-pharmacological Preventive Strategy. *Neurotoxicity Research*, 42(3). <https://doi.org/10.1007/s12640-024-00707-1>
- Campbell, H. M., Guo, J. D. y Kuhn, C. M. (2024). Applying the Research Domain Criteria to Rodent Studies of

- Sex Differences in Chronic Stress Susceptibility. In *Biological Psychiatry*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2024.05.016>
- Chen, L., Lu, Y., Hua, X., Zhang, H., Sun, S. y Han, C. (2024). Three methods of behavioural testing to measure anxiety – A review. In *Behavioural Processes* (Vol. 215). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2024.104997>
- Chung, T., Creswell, K. G., Bachrach, R., Clark, D. B. y Martin, C. S. (2018). *Adolescent Binge Drinking Developmental Context and Opportunities for Prevention*.
- Corbett, C. M., Bozarth, S. L. y West, E. A. (2024). Effects of sex and estrous cycle on action-outcome contingencies. *Behavioural Brain Research*, 477. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.115317>
- Cosquer, B., Galani, R., Kuster, N. y Cassel, J. C. (2005). Whole-body exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields does not alter anxiety responses in rats: A plus-maze study including test validation. *Behavioural Brain Research*, 156(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.05.007>
- Costa-Valle, M. T., Gomes, J. F., De Oliveira, C. R., Scherer, A., Franco De Oliveira, S. C. W. de S. E., Menezes, R. C. R., Leal, M. B., Romão, P. R. T. y Dallegrave, E. (2022). Energy drinks and alcohol in a binge drinking protocol in Wistar rats: Male and female behavioral and reproductive effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 221. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173487>
- Grews, F.T., Vetreno, R.T., Broadwater, M.A. y Robinson, D.N. (2016) Adolescent Alcohol Exposure Persistently Impacts Adult Neurobiology and Behavior. *Pharmacol Rev* 68(4):1074-1109. <https://doi.org/10.1124/pr.115.012138>.
- Cryan, J. F., Markou, A. y Lucki, I. (2002). Assessing anti-depressant activity in rodents: Recent developments and future needs. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 23(5). [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(02\)02017-5](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(02)02017-5)
- Dalla, C., Pitychoutis, P. M., Kokras, N. y Papadopoulou-Daifoti, Z. (2010). Sex differences in animal models of depression and antidepressant response. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 106(3), 226–233. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00516.x>
- Detke, M. J., Rickels, M., Lucki, I., Rickels, M. y Detke, M. J. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121, 66–72. <https://doi.org/10.1007/BF02245592>
- Desroches, D., Orevillo, C. y Verina, D. (1995). Sex-and Strain-Related Differences in First-Pass Alcohol Metabolism in Mice. *Alcohol*, 12(3), 221–226
- Donner, N. C. y Lowry, C. A. (2013). Sex differences in anxiety and emotional behavior. In *Pflugers Archiv European Journal of Physiology* (Vol. 465, Issue 5, pp. 601–626). <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1271-7>
- Elena Quintanilla, M., Tampier, L., Sapag, A., Gerdzen, Z. y Israel, Y. (2007). Sex differences, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde burst, and aversion to ethanol in the rat: A systems perspective. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293, E531–E537. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00187.2007>
- Erol, A. y Karpyak, V. M. (2015). Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: Contemporary knowledge and future research considerations. *Drug and Alcohol Dependence*, 156, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.08.023>
- Gutiérrez-Menéndez, A., Méndez, M. y Arias, J. L. (2023). Learning and metabolic brain differences between juvenile male and female rats in the execution of different training regimes of a spatial memory task. *Physiology & Behavior*, 267, 114203. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114203>
- Hamson, D. K., Roes, M. M. y Galea, L. A. M. (2016). Sex hormones and cognition: Neuroendocrine influences on memory and learning. *Comprehensive Physiology*. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150031>
- He, W., Zhang, S., Qi, Z. y Liu, W. (2024). Unveiling the potential of estrogen: Exploring its role in neuropsychiatric disorders and exercise intervention. *Pharmacological Research*, 204, 107201. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107201>
- Healey, K. L., Kibble, S., Dubester, K., Bell, A. y Swartzwelder, H. S. (2023). Adolescent intermittent ethanol exposure enhances adult stress effects in male rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 223, 173513. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173513>
- Jia, W., Li, C., Chen, H., Wang, X., Liu, Y., Shang, W., Wang, B., Meng, W., Guo, Y., Zhu, L., Wang, D., Zhou, D., Zhao, B. y Wei, L. (2024). ISRB ameliorates spatial learning and memory impairment induced by adolescent intermittent ethanol exposure in adult male rats. *Neurochemistry International*, 179, 105834. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2024.105834>
- Kaluve, A. M., Le, J. T. y Graham, B. M. (2022). Female rodents are not more variable than male rodents: A meta-analysis of preclinical studies of fear and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 143, 104962. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104962>
- Kishimoto, R., Ogishi, Y., Ueda, M., Matsdsaki, M., Amako, K., Goda, K. y Park, S.-S. (2002). Gender-related differences in mouse hepatic ethanol metabolism. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 48(3), 216–224.
- Klein Marcondes, F., Miguel, K. J., Lins Melo, L. y Spadari-Bratfisch, R. C. (2001). Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34(11), 1491–1498. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2001001100006>
- Kokras, N., Antoniou, K., Mikail, H. G., Kafetzopoulos, V., Papadopoulou-Daifoti, Z. y Dalla, C. (2015). Forced swim test: What about females? *Neuropharmacology*, 99, 408–421. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.03.016>

- Koszałka, A., Lustyk, K. y Pytka, K. (2023). Sex-dependent differences in animal cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 153, 105374. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105374>
- Lamont, M. G., McCallum, P., Head, N., Blundell, J. y Weber, J. T. (2020). Binge drinking in male adolescent rats and its relationship to persistent behavioral impairments and elevated proinflammatory/proapoptotic proteins in the cerebellum. *Psychopharmacology*, 237(5), 1305–1315. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05458-3>
- Lees, B., Mewton, L., Stapiński, L. A., Squeglia, L. M., Rae, C. D. y Teesson, M. (2019). Neurobiological and cognitive profile of young binge drinkers: A systematic review and meta-analysis. *Neuropsychology Review*, 29(3), 357–385. <https://doi.org/10.1007/s11065-019-09411-w>
- Leonardo Jimenez Chavez, C., Coelho, M. A., Brewin, L. W., Swauncy, I., Tran, T., Albanese, T., Laguna, A., Gabriela, I. y Szumlinski, K. K. (2020). Incubation of negative affect during protracted alcohol withdrawal is age-, but not sex-selective. *Brain Sciences*, 10(6), Article 405. <https://doi.org/10.3390/brainsci10060405>
- Lopez, M. F., Simpson, D. D., White, N. M. y Randall, C. L. (2003). Age- and sex-related differences in alcohol and nicotine effects in C57BL/6J mice. *Addiction Biology*, 8(4), 419–427. <https://doi.org/10.1080/13556210310001648176>
- Livy, D. J., Parnell, S. E. y West, J. R. (2003). Blood ethanol concentration profiles: A comparison between rats and mice. *Alcohol*, 29(3), 165–171. [https://doi.org/10.1016/S0741-8329\(03\)00025-9](https://doi.org/10.1016/S0741-8329(03)00025-9)
- López-Valencia, L., Moya, M., Escudero, B., García-Bueno, B. y Orio, L. (2024). Bacterial lipopolysaccharide forms aggregates with apolipoproteins in male and female rat brains after ethanol binges. *Journal of Lipid Research*, 65(3), 100509. <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2024.100509>
- Magee, S. N., Sereno, A. C. y Herman, M. A. (2024). Sex differences in basal motivated behavior, chronic ethanol drinking, and amygdala activity in female and male mice. *Alcohol*, 120, 85–97. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2024.06.004>
- Maldonado-Devincci, A. M., Makdisi, J. G., Hill, A. M., Waters, R. C., Hall, N. I., Shobande, M. J. y Kumari, A. (2022). Adolescent intermittent ethanol exposure induces sex-dependent divergent changes in ethanol drinking and motor activity in adulthood in C57BL/6J mice. *Journal of Neuroscience Research*, 100(8), 1560–1572. <https://doi.org/10.1002/jnr.24814>
- Marco, E. M., Ballesta, J. A., Irala, C., Hernández, M. D., Serrano, M. E., Mela, V. y Viveros, M. P. (2017). Sex-dependent influence of chronic mild stress (CMS) on voluntary alcohol consumption; study of neurobiological consequences. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 152, 68-80. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.11.005>
- Marco, E. M., Valero, M., De La Serna, O., Aisa, B., Borcel, E., Ramirez, M. J. y Viveros, M. P. (2013). Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. *Neuropharmacology*, 68, 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.08.014>
- Moya, M., López-Valencia, L., García-Bueno, B. y Orio, L. (2022). Disinhibition-like behavior correlates with frontal cortex damage in an animal model of chronic alcohol consumption and thiamine deficiency. *Biomedicines*, 10(2), 260. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020260>
- Moya, M., San Felipe, D., Ballesta, A., Alén, F., de Fonseca, F. R., García-Bueno, B. y Orio, L. (2021). Cerebellar and cortical TLR4 activation and behavioral impairments in Wernicke-Korsakoff Syndrome: Pharmacological effects of oleoylethanolamide. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 108, 110190. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110190>
- Obernier, J. A., Bouldin, T. W. y Crews, F. T. (2002). Binge ethanol exposure in adult rats causes necrotic cell death. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26(4), 547–557. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2002.tb02574.x>
- Org, E., Mehrabian, M., Parks, B. W., Shipkova, P., Liu, X., Drake, T. A. y Lusis, A. J. (2016). Sex differences and hormonal effects on gut microbiota composition in mice. *Gut Microbes*, 7(4), 313–322. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1203502>
- Orio, L., Antón, M., Rodríguez-Rojo, I. C., Correas, Á., García-Bueno, B., Corral, M., de Fonseca, F. R., García-Moreno, L. M., Maestú, F. y Cadaveira, F. (2018). Young alcohol binge drinkers have elevated blood endotoxin, peripheral inflammation and low cortisol levels: Neuropsychological correlations in women. *Addiction Biology*, 23(5), 1130–1144. <https://doi.org/10.1111/adb.12543>
- Orio, L. (2020). The multifaceted potential of the lipid transmitter oleoylethanolamide to treat alcohol-induced neuroinflammation and alcohol use disorders. *Neural Regeneration Research*, 15(1), 71–72. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264457>
- Orio, L., Alén, F., Pavón, F. J., Serrano, A. y García-Bueno, B. (2019). Oleoylethanolamide, neuroinflammation, and alcohol abuse. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 490. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00490>
- Paiva-Santos, M. A., Leão, A. H. F. F., Kurita, J. P. F., Becegato, M. S., Lima, A. C., Bioni, V. S., Meurer, Y. S. R., Cunha, D. M. G., Medeiros, A. M. y Silva, R. H. (2022). Sex differences in the acute ethanol effects on object recognition memory: Influence of estrous cycle. *Behavioural Pharmacology*, 33(5), 322–332. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000680>
- Pascual, M., Blanco, A. M., Cauli, O., Miñarro, J. y Guerri, C. (2007). Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats. *European Journal of Neuro-*

- ience*, 25(2), 541–550. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05298.x>
- Pascual, M., Pla, A., Miñarro, J. y Guerri, C. (2014). Neuroimmune activation and myelin changes in adolescent rats exposed to high-dose alcohol and associated cognitive dysfunction: A review with reference to human adolescent drinking. *Alcohol*, 49(2), 187–192. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agt164>
- Patrick, M. E., Evans-Polce, R. J., Parks, M. J. y Terry-McElrath, Y. M. (2021). Drinking intensity at age 29/30 as a predictor of alcohol use disorder symptoms at age 35 in a national sample. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 82(6), 740–748. <https://doi.org/10.15288/jsad.2021.82.740>
- Pavlova, I. V., Broshevitskaya, N. D., Onufriev, M. V. y Moiseeva, Y. V. (2020). Sex-related differences in anxious-depressive and defensive behavior in Wistar rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 50(9), 1163–1175. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-01028-4>
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E. y Briley, M. (1985). Validation of open: Closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Penta, P. T., Villarreal, S., Rameas, C. I., Collins, E. C., Towner, T. T., Varlinskaya, E. I. y Werner, D. F. (2024). Sex-dependent effects of ethanol withdrawal from a single- and repeated binge episode exposures on social anxiety-like behavior and neuropeptide gene expression in adolescent rats. *Alcohol*. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2024.10.001>
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M. y Jalfre, M. (1977). Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730–732. <https://doi.org/10.1038/266730a0>
- Qi, X., Zhang, K., Xu, T., Yamaki, V. N., Wei, Z., Huang, M., Rose, G. M. y Cai, X. (2016). Sex differences in long-term potentiation at temporoammonic-CA1 synapses: Potential implications for memory consolidation. *PLoS ONE*, 11(11), e0165891. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165891>
- Rath, M., Guergues, J., Pinho, J. P. C., Zhang, P., Nguyen, T. G., MacFadyen, K. A., Peris, J., McLaughlin, J. P., Stevens, S. M. y Liu, B. (2020). Chronic voluntary binge ethanol consumption causes sex-specific differences in microglial signaling pathways and withdrawal-associated behaviors in mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 44(9), 1791–1806. <https://doi.org/10.1111/acer.14420>
- Rendeiro, C., Spencer, J. P. E., Vauzour, D., Butler, L. T., Ellis, J. A. y Williams, C. M. (2009). The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: From behaviour to underlying hippocampal mechanisms. *Genes & Nutrition*, 4(4), 251–270. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0134-6>
- Rivera-Irizarry, J. K., Zallar, L. J., Levine, O. B., Skelly, M. J., Boyce, J. E., Barney, T., Kopyto, R. y Pleil, K. E. (2023). Sex differences in binge alcohol drinking and the behavioral consequences of protracted abstinence in C57BL/6J mice. *Biology of Sex Differences*, 14, 65. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00565-0>
- Rodríguez-González, A., Vitali, F., Moya, M., De Filippo, C., Passani, M. B. y Orio, L. (2021). Effects of alcohol binge drinking and oleoylethanolamide pretreatment in the gut microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 731910. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.731910>
- Rodríguez-González, A. y Orio, L. (2020). Microbiota and alcohol use disorder: Are psychobiotics a novel therapeutic strategy? *Current Pharmaceutical Design*, 26(20), 2426–2437. <https://doi.org/10.2174/138161282666200122153541>
- Rodríguez-González, A., Moya, M., Rodríguez de Fonseca, F., Gómez de Heras, R. y Orio, L. (2023). Alcohol binge drinking induces downregulation of blood-brain barrier proteins in the rat frontal cortex—but not in the hippocampus—that is not prevented by OEA pretreatment. *Advances in Drug and Alcohol Research*, 3, 11091. <https://doi.org/10.3389/adar.2023.11091>
- Sanz-Martos, A. B., Fuentes-Verdugo, E., Merino, B., Morales, L., Pérez, V., Capellán, R., Pellón, R., Miguéns, M. y del Olmo, N. (2023). Schedule-induced alcohol intake during adolescence sex dependently impairs hippocampal synaptic plasticity and spatial memory. *Behavioural Brain Research*, 452, 114576. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114576>
- Sayd, A., Antón, M., Alén, F., Caso, J. R., Pavón, J., Leza, J. C., De Fonseca, F. R., García-Bueno, B. y Orio, L. (2015). Systemic administration of oleoylethanolamide protects from neuroinflammation and anhedonia induced by LPS in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(6), 1–14. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu111>
- Scheggi, S., De Montis, M. G. y Gambarana, C. (2018). Making sense of rodent models of anhedonia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 21(11), 1049–1065. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy083>
- Scholl, J. L., Afzal, A., Fox, L. C., Watt, M. J. y Forster, G. L. (2019). Sex differences in anxiety-like behaviors in rats. *Physiology and Behavior*, 211, 112670. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112670>
- Shansky, R. M. (2018). Sex differences in behavioral strategies: Avoiding interpretational pitfalls. *Current Opinion in Neurobiology*, 49, 95–98. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.01.007>
- Shirazi, T. N., Levenberg, K., Cunningham, H., Self, H., Dawood, K., Cárdenas, R., Ortiz, T. L., Carré, J. M., Breedlove, S. M. y Puts, D. A. (2021). Relationships between ovarian hormone concentrations and mental rotations performance in naturally-cycling women. *Hormones*

- and Behavior, 127, 104886. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104886>
- Sicher, A. R., Duerr, A., Starnes, W. D. y Crowley, N. A. (2022). Adolescent alcohol and stress exposure rewires key cortical neurocircuitry. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 896880. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.896880>
- Simon, F. R., Fortune, J., Iwahashi, M., Sutherland, E. y Simon, F. R. (2002). Sexual dimorphic expression of ADH in rat liver: Importance of the hypothalamic-pituitary-liver axis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283, 646–655. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00438.2001>
- Sircar, R. (2019). Estrogen modulates ethanol-induced memory deficit in postpubertal adolescent rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 43(1), 61–68. <https://doi.org/10.1111/acer.13921>
- Slattery, D. A. y Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocols*, 7(6), 1009–1014. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
- Slattery, D. A., Markou, A. y Cryan, J. F. (2007). Evaluation of reward processes in an animal model of depression. *Psychopharmacology*, 190(4), 555–568. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0630-x>
- Spear, L. P. (2018). Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(4), 197–214. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.10>
- Thomasson, H. R. (2002). Gender differences in alcohol metabolism. In *Recent Developments in Alcoholism* (Vol. 12, pp. 163–179). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-306-47138-8_9
- van Goethem, N. P., Rutten, K., van der Staay, F. J., Jans, L. A. W., Akkerman, S., Steinbusch, H. W. M., Blokland, A., van't Klooster, J. y Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: Rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. *Behavioural Brain Research*, 232(2), 323–334. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.023>
- Van Hees, L., Didone, V., Charlet-Briart, M., Van Ingelgom, T., Alexandre, A., Quertemont, E., Nguyen, L. y Laguësse, S. (2022). Voluntary alcohol binge-drinking in adolescent C57Bl6 mice induces delayed appearance of behavioural defects in both males and females. *Addiction Biology*, 27(1), e13102. <https://doi.org/10.1111/adb.13102>
- Varlinskaya, E. I., Hosová, D., Towner, T., Werner, D. F. y Spear, L. P. (2020). Effects of chronic intermittent ethanol exposure during early and late adolescence on anxiety-like behaviors and behavioral flexibility in adulthood. *Behavioural Brain Research*, 378, 112292. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112292>
- Vijayakumar, N., Op de Macks, Z., Shirtcliff, E. A. y Pfeiffer, J. H. (2018). Puberty and the human brain: Insights into adolescent development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 92, 417–436. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.06.004>
- Vorhees, C. V. y Williams, M. T. (2006). Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116>
- Walker, B. M., Drimmer, D. A., Walker, J. L., Liu, T., Mathé, A. A. y Ehlers, C. L. (2010). Effects of prolonged ethanol vapor exposure on forced swim behavior, and neuropeptide Y and corticotropin-releasing factor levels in rat brains. *Alcohol*, 44(6), 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.04.003>
- Waszkiewicz, N., Galińska-Skok, B., Nestsiarovich, A., Kułak-Bejda, A., Wilczyńska, K., Simonienko, K., Kwiatkowski, M. y Konarzewska, B. (2018). Neurobiological effects of binge drinking help in its detection and differential diagnosis from alcohol dependence. *Disease Markers*, 2018, 5623683. <https://doi.org/10.1155/2018/5623683>
- World Health Organization. (2024). *Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders*.
- World Health Organization. (1948). *Constitution of the World Health Organization*. Alcohol. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>
- Xia, J., Wang, H., Zhang, C., Liu, B., Li, Y., Li, K., Li, P. y Song, C. (2023). The comparison of sex differences in depression-like behaviors and neuroinflammatory changes in a rat model of depression induced by chronic stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.1059594>
- Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A. y Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *Journal of Visualized Experiments*, 2015(97). <https://doi.org/10.3791/52587>
- Zorzo, C., Arias, J. L. y Méndez, M. (2024). Are there sex differences in spatial reference memory in the Morris water maze? A large-sample experimental study. *Learning and Behavior*, 52(2), 179–190. <https://doi.org/10.3758/s13420-023-00598-w>



SOCIDROGALCOHOL
Sociedad Científica Española
de Estudios sobre el Alcohol,
el Alcoholismo y las otras Toxicomanías



ORIGINAL

El historial previo de estrés modula los cambios transcripcionales inducidos por alcohol en la adolescencia en las vías glutamatérgicas y endocannabinoides del estriado

Prior stress history shapes adolescent alcohol-induced transcriptional changes in striatal glutamatergic and endocannabinoid pathways

LAURA SÁNCHEZ-MARÍN*, **; BERKE CANOLUK*, ***; JULIA VERHEUL-CAMPOS*, **; ANA L. GAVITO*, **; RAQUEL REVIRIEGO*, **;
FRANCISCO J. PAVÓN-MORÓN*, ****, *****; ANTONIA SERRANO*, **; FERNANDO RODRÍGUEZ DE FONSECA*, ***.

* Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina-IBIMA Plataforma BIONAND, Málaga, España.

** Unidad de Gestión Clínica de Salud Mental, Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, España.

*** Unidad de Gestión Clínica de Neurología, Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, España.

**** Unidad de Gestión Clínica Área del Corazón, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, España.

*****CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

Resumen

La adolescencia es una etapa de desarrollo crítica durante la cual la exposición al estrés y al alcohol puede inducir alteraciones neurobiológicas de larga duración. El consumo de alcohol en atracon es especialmente disruptivo para los circuitos corticoestriatales, sin embargo, aún se conoce poco sobre hasta qué punto la historia previa de estrés modula estos efectos. En este estudio investigamos cómo el estrés por inmovilización, ya sea agudo o repetido, antes de la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia modula los cambios transcripcionales en el estriado dorsal de ratas macho. Los animales fueron expuestos a una sesión única (agudo) o a cinco días consecutivos (repetido) de estrés por inmovilización entre los días posnatales (DPN) 32–36, seguido de cuatro semanas de administración intermitente intragástrica de etanol (3 g/kg) o solución salina. En la edad adulta se cuantificó la expresión de ARNm estriatal de genes dopaminérgicos (*Drd1*, *Drd2*, *Th*), glutamatérgicos (*Gls*, *Gls2*, *Gria2*, *Grin2a*, *Grin2b*), endocannabinoides (*Cnr1*, *Cnr2*, *Napepld*, *Faah*, *Dagla*, *Daglb*, *Mgl*), neurotróficos (*Bdnf*, *Ntrk2*) y gliales (*Gfap*, *Aif1*). La exposición al alcohol incrementó la expresión de genes asociados con la síntesis de glutamato y la señalización de receptores, el metabolismo endocannabinoide y la activación astrocítica. El estrés agudo amplificó la expresión inducida por alcohol de *Gls*, *Gls2*, *Gria2*, *Napepld*, *Faah*, *Daglb*, *Ntrk2* y *Gfap*, mientras que el estrés repetido atenuó estos efectos y aumentó selectivamente la expresión de *Drd1*, *Drd2*, *Grin2a* y *Bdnf*. La activación microglial (*Aif1*) se incrementó por el alcohol independientemente del estrés. Estos resultados sugieren que el estrés agudo sensibiliza las vías glutamatérgicas y endocannabinoides al alcohol, mientras que el estrés repetido activa mecanismos adaptativos consistentes con la hipótesis de la inocularción de estrés. En conjunto, el historial de estrés determina de manera crítica los resultados neurobiológicos de la exposición al alcohol durante la adolescencia, con implicaciones para la resiliencia y la vulnerabilidad a la psicopatología inducida por alcohol.

Palabras clave: alcohol, estrés, adolescencia, estriado, glutamatérgico, endocannabinoide

Abstract

Adolescence is a critical developmental window during which exposure to stress and alcohol can induce long-lasting neurobiological alterations. Binge-like alcohol consumption is particularly disruptive to corticostriatal circuits, but the extent to which prior stress history modulates these effects remains poorly understood. Here, we investigated how acute versus repeated restraint stress before intermittent alcohol exposure during adolescence shapes transcriptional changes in the dorsal striatum of male rats. Animals were exposed either to a single (acute) or five-day (repeated) restraint stress at postnatal day (PND) 32–36, followed by four weeks of intermittent intragastric ethanol (3 g/kg) or saline administration. At adult age, striatal mRNA expression of dopaminergic (*Drd1*, *Drd2*, *Th*), glutamatergic (*Gls*, *Gls2*, *Gria2*, *Grin2a*, *Grin2b*), endocannabinoid (*Cnr1*, *Cnr2*, *Napepld*, *Faah*, *Dagla*, *Daglb*, *Mgl*), neurotrophic (*Bdnf*, *Ntrk2*) and glial (*Gfap*, *Aif1*) genes was quantified. Alcohol exposure upregulated genes associated with glutamate synthesis and receptor signaling, endocannabinoid metabolism, and astrocytic activation. Acute stress amplified alcohol-induced expression of *Gls*, *Gls2*, *Gria2*, *Napepld*, *Faah*, *Daglb*, *Ntrk2*, and *Gfap*, while repeated stress blunted these effects and selectively enhanced *Drd1*, *Drd2*, *Grin2a*, and *Bdnf* expression. Microglial activation (*Aif1*) was increased by alcohol independently of stress. These results suggest that acute stress sensitizes glutamatergic and endocannabinoid pathways to alcohol, whereas repeated stress engages adaptive mechanisms consistent with the stress inoculation hypothesis. Overall, stress history critically determines the neurobiological outcomes of adolescent alcohol exposure, with implications for resilience and vulnerability to alcohol-induced psychopathology.

Keywords: alcohol, stress, adolescence, striatum, glutamatergic, endocannabinoid

■ Recibido: Septiembre 2025; Aceptado: Noviembre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Fernando Rodríguez de Fonseca (Fernando.rodriguez@ibima.eu) y Antonia Serrano (Antonia.serrano@ibima.eu). Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina-IBIMA Plataforma BIONAND, Avenida Severo Ochoa 35, 29590, Málaga, España.

La adolescencia es una ventana crítica del desarrollo en la que influencias externas, como el estrés, las drogas, las infecciones o los traumas, pueden inducir consecuencias a largo plazo sobre la función emocional y cognitiva. La intensidad y la secuencia temporal de estas influencias son fundamentales, ya que pueden conducir a resultados que van desde una alteración cognitiva y emocional grave hasta fenotipos resilientes. Sin embargo, los mecanismos involucrados en el fenotipo final del desarrollo no se comprenden completamente. En el caso del alcohol, un patrón de consumo muy extendido como es el consumo en atracón (consumo repetido y de alta intensidad) ha demostrado ser particularmente perjudicial. Los modelos con roedores han demostrado que la exposición al alcohol durante la adolescencia produce déficits en la memoria de reconocimiento, la flexibilidad cognitiva, un aumento de la desinhibición y resistencia al aprendizaje de extinción en la edad adulta (Sanchez-Marín et al., 2022a; Sanchez-Marín et al., 2017), a menudo asociados con conductas de tipo ansioso y depresivo. Los estudios de neuroimagen en humanos vinculan el consumo excesivo de alcohol en la adolescencia con alteraciones en la microestructura cortico-subcortical y una conectividad funcional alterada en circuitos críticos para la memoria y la recompensa, cambios que predicen un peor control cognitivo y un mayor riesgo de trastornos por uso de sustancias en el futuro (Huntley et al., 2020; Morris et al., 2018). Los hallazgos en humanos y roedores convergen: el consumo intermitente de alcohol en la adolescencia produce déficits persistentes en el aprendizaje de extinción de la conducta de búsqueda de alcohol que perduran hasta la edad adulta, comportamientos que se asemejan a problemas reales de toma de decisiones en individuos con exposición temprana e intensa al alcohol (Gass et al., 2014). Estos datos subrayan la importancia para la salud pública del consumo en atracón durante la adolescencia y su capacidad de influir en el desarrollo de psicopatologías en la edad adulta.

Numerosos estudios sitúan al estriado dorsal, un nodo clave para la selección de acciones y el aprendizaje de hábitos, en el centro de estos efectos duraderos del alcohol (Clabough et al., 2021; O'Tousa y Grahame, 2014; Salinas et al., 2022; Vrettou et al., 2017; Wilcox et al., 2014). La exposición al alcohol durante la adolescencia altera los mecanismos de plasticidad estriatal que sustentan el control flexible dirigido a objetivos, lo que coincide con la tendencia observada en la edad adulta hacia respuestas habituales tras la exposición adolescente al alcohol (Gass et al., 2014). A nivel sináptico, un estudio previo ha demostrado que el etanol crónico deteriora la depresión a largo plazo (LPD) dependiente de mGlu2 en el estriado de ratones de manera dependiente de la edad, proporcionando un precedente mecanístico de cómo la exposición durante la adolescencia puede alterar la maduración corticoestriatal crítica para el aprendizaje adaptativo (Johnson et al., 2020). Trabajos previos también han mostrado que la exposición al alcohol durante la adolescencia puede remodelar las redes de

interneuronas estriatales y las redes perineuronales en la edad adulta (Dannenhoffer et al., 2022), destacando sustratos específicos de tipo celular a través de los cuales las funciones del estriado dorsal pueden reconfigurarse de manera duradera. Estos hallazgos evidencian que la exposición al alcohol durante la adolescencia produce cambios perdurables en los circuitos estriatales, los cuales pueden servir como base mecanística para estudiar las interacciones entre estrés y alcohol.

Desde un punto de vista mecanístico, el alcohol durante la adolescencia remodela múltiples sistemas neuromoduladores en el estriado. Entre ellos, los sistemas de señalización dopaminérgica, glutamatérgica y endocannabinoide (eCB) son particularmente relevantes debido a su papel central en la función estriatal y su sensibilidad tanto al alcohol como al estrés. El sistema dopaminérgico experimenta una profunda maduración durante la adolescencia, modulando el aprendizaje por refuerzo, la motivación y la sensibilidad a la recompensa (Hoops y Flores, 2017). La exposición al alcohol durante este periodo altera de forma persistente la transmisión dopaminérgica, con respuestas potenciadas al alcohol y señalización basal atenuada dependiendo de la subregión y el patrón de exposición, lo que indica una señal de refuerzo sensibilizada pero desregulada (Carrara-Nascimento et al., 2020; Shmitko et al., 2016; Zandy et al., 2015). Complementando estos efectos funcionales, la exposición al alcohol durante la adolescencia cambia la expresión de genes colinérgicos y dopaminérgicos (Hauser et al., 2021) y deja las interneuronas colinérgicas alteradas, asociadas a déficits cognitivos (Galaj et al., 2019). De forma paralela, las aferencias glutamatérgicas desde la corteza proporcionan el principal impulso excitatorio a las neuronas estriatales. El alcohol adolescente altera este sistema en múltiples niveles, incluyendo un aumento del glutamato extracelular durante la sensibilización y una regulación presináptica y metabotrópica deteriorada, lo que socava la plasticidad corticoestriatal y la flexibilidad conductual (Carrara-Nascimento et al., 2011; Johnson et al., 2020; Pascual et al., 2009). Finalmente, el sistema eCB actúa como un regulador clave de la excitación/inhibición corticoestriatal y se ve afectado tanto directamente por el alcohol intermitente durante la adolescencia como indirectamente a través de interacciones estrés-alcohol (Sanchez-Marín et al., 2022a; Sanchez-Marín et al., 2022b; Sanchez-Marín et al., 2020; Sanchez-Marín et al., 2017). En conjunto, las alteraciones convergentes en estos sistemas de neurotransmisión proporcionan un marco coherente para entender cómo el consumo en atracón durante la adolescencia puede sesgar los circuitos estriatales dorsales hacia un comportamiento habitual e inflexible en la edad adulta. Debido a que estos sistemas aún están madurando durante la adolescencia, el estrés y el alcohol pueden interactuar para producir neuroadaptaciones duraderas que alteren la sensibilidad a la recompensa y aumenten la vulnerabilidad a los trastornos por uso de sustancias.

El estrés y el trauma durante la adolescencia pueden influir adicionalmente en los efectos del alcohol sobre la función estriatal y el comportamiento adulto. Estudios preclínicos indican que el impacto del estrés temprano en el comportamiento adulto depende de su intensidad, duración, momento de exposición y previsibilidad, siendo frecuente que la exposición durante la adolescencia produzca resultados tanto beneficiosos como perjudiciales en un patrón de respuesta en forma de campana (Sandi y Pinelo-Nava, 2007). De manera consistente con el concepto de “inoculación de estrés”, el estrés repetido de leve a moderado durante la adolescencia puede proteger frente a deterioros cognitivos inducidos por traumas o la exposición al alcohol (Chaby et al., 2020; Sircar, 2020). Originalmente descrita por Lyons y Parker (Lyons y Parker, 2007), la inoculación de estrés se refiere a un mecanismo conservado evolutivamente mediante el cual el estrés moderado potencia la resiliencia, probablemente a través de neuroplasticidad adaptativa (Lotan et al., 2018).

Estos efectos duales se ilustran con los hallazgos de que el estrés en etapas tempranas de la vida y durante la adolescencia aumenta la ingesta de alcohol y altera la señalización eCB. Por ejemplo, la separación materna eleva el consumo de alcohol y reduce los niveles de eCB en el estriado y la corteza prefrontal (Favoretto et al., 2025; Portero-Tresserra et al., 2018). En animales expuestos al alcohol en la adolescencia, el estrés exacerbaba el afecto negativo y los déficits en el procesamiento de la recompensa, junto con alteraciones en CRF, monoaminas y glutamato, poniendo de relieve una sinergia estrés–alcohol que altera los circuitos motivacionales (Boutros et al., 2018; Van Waes et al., 2011). Al mismo tiempo, la inoculación de estrés mediante exposiciones repetidas, controlables o moderadas puede promover resiliencia. Así, estudios previos han mostrado que el estrés repetido en la mitad de la adolescencia atenúa las consecuencias conductuales, noradrenérgicas y epigenéticas del estrés severo en la adultez temprana (Chaby et al., 2020), mientras que manipulaciones ambientales, como la actividad en la rueda durante la adolescencia, previenen la escalada del consumo de alcohol inducida por estrés (Reguilón et al., 2025).

En conjunto, estos hallazgos sugieren que la investigación en alcohol debe comparar explícitamente estrés agudo y repetido durante la adolescencia para distinguir mecanismos de vulnerabilidad frente a inoculación, particularmente dentro de los circuitos estriatales dorsales donde convergen los sistemas de estrés, eCB, colinérgico, dopamínergico y glutamatérgico para moldear la selección de acciones y el riesgo de adicción a largo plazo. Aunque múltiples regiones cerebrales, como la corteza prefrontal, el hipocampo, la amígdala y el núcleo accumbens, están críticamente involucradas en la respuesta al estrés y en conductas relacionadas con la adicción (Juliano et al., 2025), nos centramos en el estriado dorsal debido a que la exposición al alcohol en la adolescencia produce adaptaciones robustas y duraderas en esta región. Además, el estriado dorsal integra múltiples sistemas neuromoduladores, proporcionando un marco

mecanístico adecuado para analizar transcripcionalmente las interacciones estrés–alcohol. Por lo tanto, el presente estudio se diseñó para comparar los efectos del estrés único frente al repetido antes del consumo en atracón de alcohol sobre un conjunto específico de genes representativos de las vías dopamínérgicas, glutamatérgicas y eCB, así como marcadores neurotróficos y gliales, seleccionados por su relevancia establecida para la plasticidad estriatal inducida por estrés y alcohol en la adolescencia. Los marcadores neurotróficos, específicamente el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y su receptor TrkB, fueron incluidos dado su papel central en la plasticidad sináptica dependiente de la actividad y en las respuestas adaptativas al estrés y alcohol durante la adolescencia (Binder y Scharfman, 2004; Logrip et al., 2015; Murakami et al., 2005). Las alteraciones en esta vía pueden influir en la función del circuito estriatal a largo plazo y en los resultados conductuales, proporcionando un sustrato mecanístico para los cambios inducidos por estrés y alcohol. En este estudio se seleccionaron únicamente animales machos para reducir la variabilidad relacionada con los efectos neuroprotectores específicos del sexo de las hormonas ováricas, que podrían confundir la interpretación de los cambios transcripcionales inducidos por estrés y alcohol. Aunque las adolescentes también consumen alcohol en atracón, incluirlas en este estudio inicial podría dificultar la interpretación mecanística; estudios futuros deberán incorporar ambos sexos para evaluar posibles diferencias en vulnerabilidad y resiliencia.

Método

Animales y declaración ética

Se utilizaron un total de 88 ratas Wistar macho (Charles River Laboratories, Francia), con un peso de 75–100 g a su llegada, distribuidas en dos protocolos experimentales incluidos en este estudio. Las ratas fueron recibidas en el día postnatal (DPN) 21 y alojadas por parejas en un animalario con humedad y temperatura controladas, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 h (luces apagadas a las 19:00h). Durante todo el estudio, se proporcionaron alimento estándar en pellets y agua ad libitum. Todos los animales fueron aclimatados a las condiciones de alojamiento durante varios días antes de iniciar cualquier procedimiento experimental.

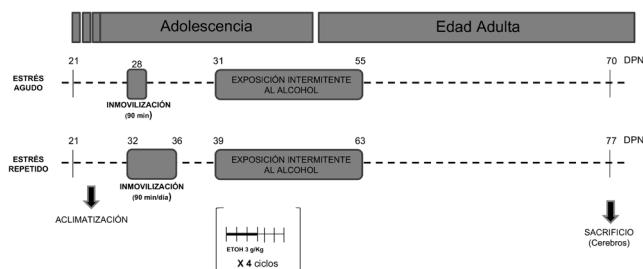
El estudio fue diseñado y llevado a cabo de acuerdo con la Directiva Europea 2010/63/EU para la protección de los animales utilizados con fines científicos, así como con la normativa española vigente (Real Decreto 53/2013 y 178/2004; Ley 32/2007 y 9/2003; Decreto 320/2010). Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética e Investigación de la Universidad de Málaga (CEUMA) y se ajustaron a las directrices ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments). Se realizaron todos los esfuerzos posibles para minimizar el sufrimiento animal y emplear el número mínimo necesario de animales.

Diseño experimental

El diseño experimental ha sido descrito previamente en dos estudios independientes (Sanchez-Marin et al., 2022a; Sanchez-Marin et al., 2022b). Se utilizaron un total de 88 ratas Wistar macho adolescentes divididas en dos cohortes experimentales. En ambas, los animales fueron asignados aleatoriamente a condiciones de estrés o no estrés, y posteriormente subdivididos en grupos de tratamiento con alcohol o solución salina, dando lugar a seis subgrupos experimentales principales: sin estrés + salino; estrés agudo + salino; estrés repetido + salino; no estrés (control) + alcohol; estrés agudo + alcohol; estrés repetido + alcohol.

Figura 1

Diseño experimental



Nota. Para la exposición a estrés agudo, la mitad de las ratas macho adolescentes ($n = 24$) fueron expuestas a 90 min de estrés por inmovilización el día postnatal (DPN) 28, mientras que la otra mitad permaneció sin manipular en su jaula. Para el estrés repetido, la mitad de las ratas macho adolescentes ($n = 20$) fueron expuestas a estrés por inmovilización durante 90 min diarios durante 5 días consecutivos (DPN 32–36), y la otra mitad permaneció sin manipular. Tras la exposición al estrés, la mitad de los animales previamente sin manipular y la mitad de los animales estresados en cada condición de estrés (estrés único vs. estrés repetido) fueron expuestos a 4 ciclos de administración intragástrica de alcohol (3 g/kg). Cada ciclo consistió en 4 días consecutivos de tratamiento con alcohol seguidos de 3 días de descanso. Los animales restantes recibieron una solución salina isovolumétrica siguiendo el mismo calendario. Los animales fueron sacrificados 2 semanas después de la última administración de alcohol/salino, y se recogieron muestras del estriado dorsal para el análisis de la expresión de ARNm. Este protocolo dio lugar a 6 subgrupos experimentales: no estrés+salino, estrés agudo+salino, estrés repetido+salino, no estrés (control)+alcohol, estrés agudo+alcohol y estrés repetido+alcohol.

Exposición al estrés

En la primera cohorte ($n=48$), las ratas fueron sometidas a una única sesión de estrés por inmovilización(90 min en DPN28), mientras que en la segunda cohorte ($n=40$), el estrés consistió en 5 sesiones diarias de 90 min cada una (DPN32–36). Las ratas no expuestas a estrés en ambas cohortes permanecieron sin manipulación.

Procedimiento de alcohol intermitente

Tal como se describió previamente (Sanchez-Marin et al., 2022a; Sanchez-Marin et al., 2022b), las ratas de los grupos de alcohol recibieron 3 g/kg de etanol (25% v/v en salino mediante gavage intragástrico durante 4 días consecutivos, seguido de un periodo de 3 días sin alcohol. Este ciclo se repitió durante 4 semanas. Los grupos de salino recibieron una solución salina isovolumétrica siguiendo el mismo calendario. Todas las administraciones fueron realizadas por personal investigador entrenado.

Obtención de muestras y disección cerebral

Dos semanas después de la última administración de alcohol (DPN70–77), las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) para la obtención del tejido cerebral. Los cerebros fueron extraídos rápidamente, congelados inmediatamente en hielo seco y almacenados a -80°C hasta los análisis moleculares. Para la disección, los cerebros congelados se colocaron en matrices de acero inoxidable para cerebro de rata, y se obtuvieron secciones coronales de 2 mm de grosor utilizando cuchillas. El estriado dorsal se diseccionó bilateralmente usando un sacabocados, guiándose por las referencias anatómicas del atlas cerebral de Paxinos y Watson (Paxinos y Watson, 1998).

Aislamiento de ARN y análisis por RT-qPCR

Se utilizó PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) para medir los niveles relativos de expresión de ARNm de genes seleccionados implicados en la señalización dopamínérgica, la transmisión glutamatérgica, el metabolismo endocannabinoide, el soporte neurotrófico y marcadores neuroinflamatorios. Los genes analizados fueron: receptores de dopamina D1 (*Drd1*) y D2 (*Drd2*); tirosina hidroxilasa (*Th*); subunidades de receptores de glutamato *Gria2* (AMPA), *Grin2a* y *Grin2b* (NMDA); isoformas de glutaminasa *Gls* y *Gls2*; genes relacionados con el sistema endocannabinoide, incluyendo los receptores cannabinoides CB₁ (*Cnr1*) y CB₂ (*Cnr2*), monoacilglicerol lipasa (*Mgll*), diacilglicerol lipasa alfa (*Dagla*) y beta (*Daglb*), N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipasa D (*Napepld*) y la amida hidrolasa de ácidos grasos (*Faah*); así como el factor neurotrófico derivado del cerebro (*Bdnf*), su receptor TrkB (*Ntrk2*), la proteína ácida fibrilar glial (*Gfap*) y el factor inflamatorio de aloinjerto 1 (*Aif1*).

El ARN total se extrajo del tejido cerebral diseccionado utilizando el reactivo TRIzol (Gibco BRL Life Technologies, Baltimore, MD, EE. UU.), según lo descrito previamente (Sanchez-Marin et al., 2022a). Las reacciones de RT-qPCR se realizaron en un sistema CFX Duet Real-Time PCR (Bio-Rad Laboratories, Hercules City, CA, EE. UU.) utilizando el formato de marcaje FAM de los TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Todos los valores de expresión se normalizaron utilizando el gen de referencia β -actina (*Actb*), que mostró expresión estable entre los grupos experimentales. La expresión génica relativa se calculó mediante el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, expresando los niveles de expresión en relación con el grupo control. Los cebadores y sondas TaqMan fueron seleccionadas a partir de secuencias validadas de ARNm de rata del repositorio de Applied Biosystems (<https://www.thermofisher.com/order/genome-database/>), y la información detallada se encuentra en la Tabla Suplementaria S1.

Análisis estadístico

Todos los datos representados en gráficos se expresan como media \pm SEM. La distribución normal de los datos se evaluó

mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias dentro y entre grupos se evaluaron mediante un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) [factores: f1 “estrés” (no estrés (control)/estrés único/estrés repetido) y f2 “alcohol” (salino (alcohol)]. La prueba de Tukey se utilizó como análisis post hoc para comparaciones múltiples entre subgrupos cuando el ANOVA de dos vías reveló interacción ($f_1 \times f_2$).

Los valores estadísticos y grados de libertad se indican en la descripción de los resultados y se presentan en tablas dentro de las figuras para facilitar la interpretación. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism versión 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.).

Resultados

En el presente estudio evaluamos la expresión de genes seleccionados relacionados con la señalización dopaminérgica, la transmisión glutamatérgica, la señalización eCB, el soporte neurotrófico y marcadores gliales reactivos (neuroinflamatorios) en el estriado dorsal de ratas macho adultas jóvenes (DPN 70–77) previamente expuestas a estrés por inmovilización (agudo o repetido) y posteriormente sometidas a cuatro semanas de exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia.

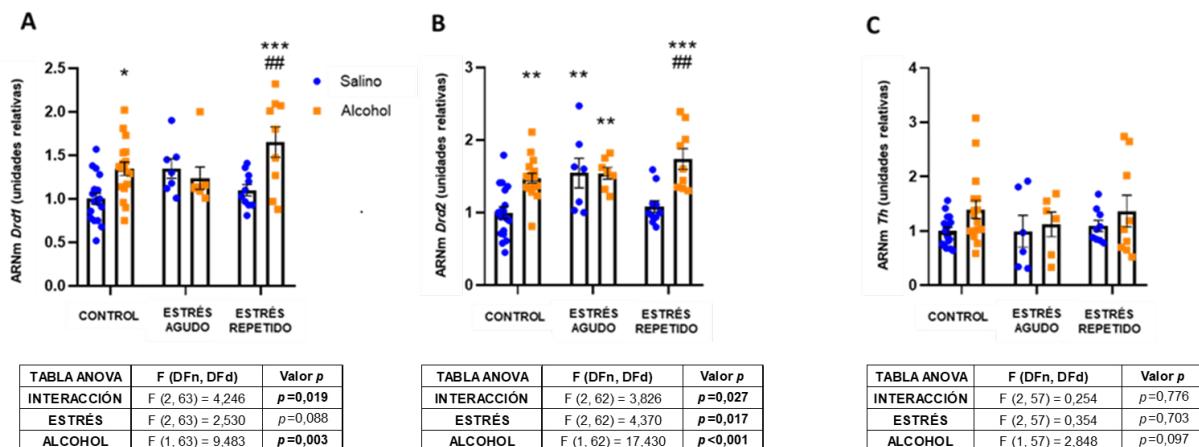
Efectos del estrés por inmovilización y del alcohol intermitente sobre la expresión de ARNm de genes de señalización dopaminérgica en el estriado dorsal

En primer lugar, evaluamos los efectos del estrés y/o la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia sobre la expresión de ARNm de los receptores de dopamina

(*Drd1* y *Drd2*), y de Th, la enzima limitante en la síntesis de dopamina. El ANOVA reveló un efecto principal significativo de “alcohol” y una interacción significativa “estrés” × “alcohol” sobre los niveles de ARNm de *Drd1*. El análisis post hoc para comparaciones múltiples mostró que el alcohol aumentó los niveles de ARNm de este receptor en el subgrupo control+alcohol en comparación con el subgrupo sin estrés+salino ($*p < 0,05$), y en el subgrupo estrés repetido+alcohol comparado con control+salino ($***p < 0,001$) y estrés repetido+salino ($##p < 0,01$). Notablemente, este efecto no se observó en animales expuestos a estrés agudo, donde los subgrupos tratados con salino o alcohol mostraron valores similares (Figura 2A). Estos resultados indicaron que el estrés agudo atenuó el aumento inducido por el alcohol en *Drd1*, mientras que el estrés repetido lo potenció. Para la expresión de *Drd2* (Figura 2B), el ANOVA mostró efectos principales significativos de “alcohol” y “estrés”, así como una interacción significativa “estrés” × “alcohol”. El análisis post hoc mostró que los niveles de ARNm de *Drd2* aumentaron significativamente en todos los subgrupos tratados con alcohol en comparación con los animales control+salino ($**p < 0,01$ y $***p < 0,001$), excepto en el subgrupo estrés repetido+salino, sugiriendo que el efecto del estrés agudo se atenuó en animales con estrés repetido y salino. Además, las ratas con estrés repetido+alcohol mostraron un aumento significativo en la expresión de ARNm de este receptor en comparación con el subgrupo estrés repetido+salino ($##p < 0,01$). En contraste, la expresión de *Th* no se vio afectada significativamente por “estrés” o “alcohol”, aunque se observó una tendencia no significativa hacia un aumento de la expresión en los animales expuestos al alcohol, probablemente debido a una variabilidad interindividual (Figura 2C).

Figura 2

Efectos diferenciales del estrés agudo y repetido previo sobre el impacto de la exposición intensiva al alcohol durante la adolescencia en la expresión de ARNm de genes de señalización dopaminérgica en el estriado dorsal de ratas adultas



Nota. Expresión relativa de ARNm de *Drd1* (A); *Drd2* (B); y *Th* (C). Las columnas representan la media ± SEM (7-10 ratas/subgrupo). Las tablas situadas bajo cada panel muestran los resultados del ANOVA de dos factores. Los valores *p* en negrita indican efectos principales significativos de los factores (“estrés” y “alcohol”) o interacción significativa (“estrés” × “alcohol”). **p*<0,05, ***p*<0,01 y ****p*<0,001 indican diferencias significativas con respecto al subgrupo estrés repetido+salino utilizando pruebas post hoc para comparaciones múltiples cuando se detecta una interacción entre factores.

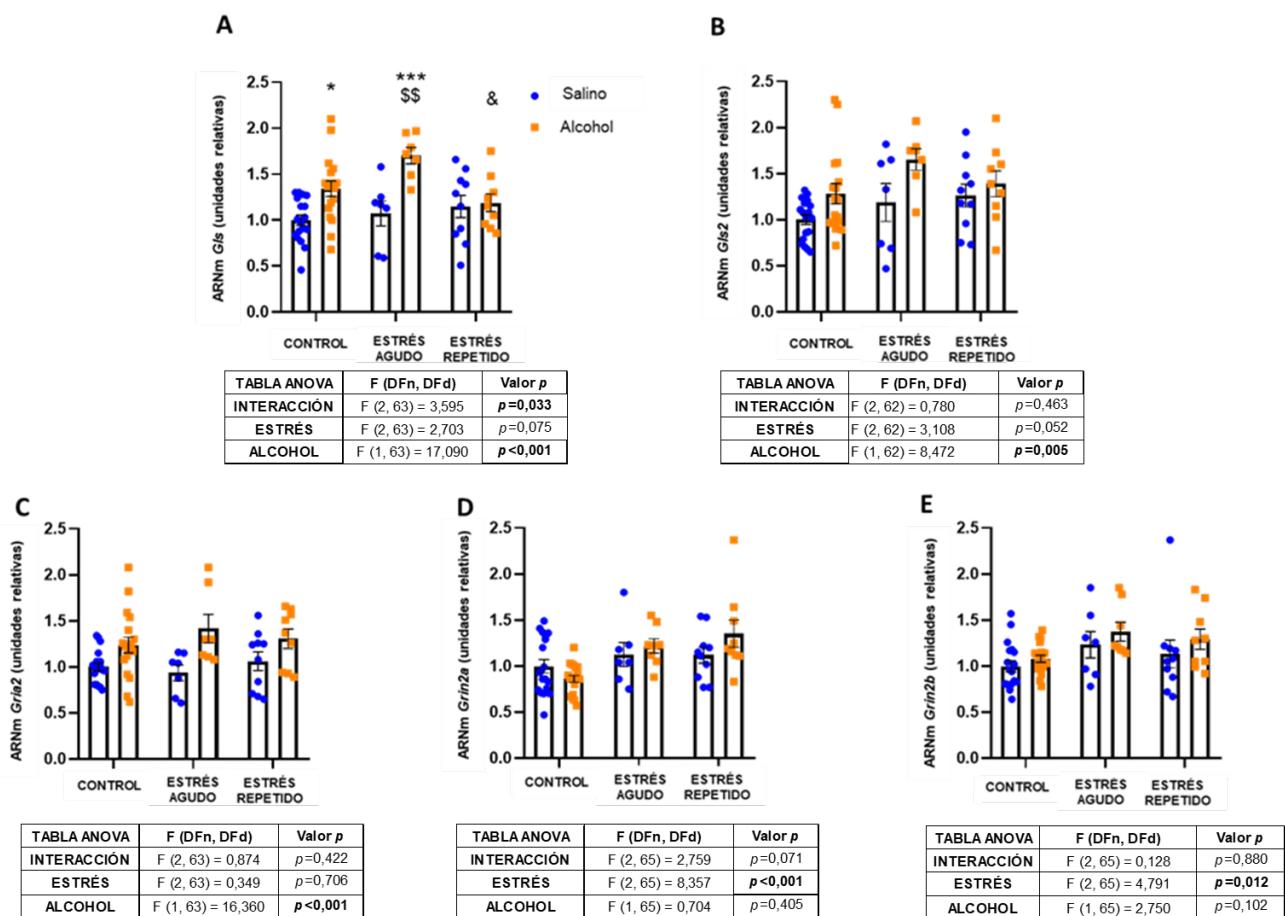
Efectos del estrés por inmovilización y del alcohol intermitente sobre la expresión de ARNm de genes de señalización glutamatérgica en el estriado dorsal

A continuación, evaluamos los efectos del estrés y/o la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia sobre la expresión de ARNm de los genes que codifican las isoformas de glutaminasa *Gls* y *Gls2*, enzimas responsables de convertir la glutamina en glutamato, un paso clave en la neurotransmisión excitatoria, así como sobre la expresión de las subunidades de los receptores de glutamato *Gria2* (AMPA), *Grin2a* y *Grin2b* (NMDA).

Como se muestra en la Figura 3A, el análisis estadístico reveló un efecto principal significativo de “alcohol” sobre la expresión de ARNm de *Gls*, así como una interacción significativa “estrés” × “alcohol”. El análisis post hoc mostró un aumento significativo en los niveles de ARNm de *Gls* en los subgrupos control+alcohol y estrés agudo+alcohol en comparación con los animales control+salino ($*p<0,05$ y $**p<0,001$, respectivamente). Además, los animales del subgrupo estrés agudo+alcohol mostraron niveles de *Gls* significativamente mayores que estrés agudo+salino ($^{**}p<0,01$) y estrés repetido+alcohol ($^{\&}p<0,05$). Estos resultados sugieren que, mientras que el alcohol aumentó la disponibilidad de glutamato, el estrés agudo amplificó este efecto, y el estrés repetido lo atenuó. Para la expresión de *Gls2* (Figura 3B), el análisis estadístico también reveló un efecto principal significativo de “alcohol”, indicando un aumento inducido por el alcohol en la disponibilidad de glutamato. El estrés por sí solo no alteró la expresión de *Gls* o *Gls2*. Para los receptores AMPA (Figura 3C), el alcohol aumentó significativamente la expresión de ARNm de la subunidad *Gria2*. Finalmente, para los receptores NMDA (Figuras 3D y 3E), el ANOVA mostró efectos principales significativos de “estrés” sobre la expresión de ARNm de *Grin2a* y *Grin2b*. Los animales estresados mostraron niveles más altos de ARNm de estas subunidades de receptores NMDA en comparación con los controles no estresados.

Figura 3

Efectos diferenciales del estrés agudo y repetido previo sobre el impacto de la exposición intensiva al alcohol durante la adolescencia en la expresión de ARNm de genes de señalización glutamatérgica en el estriado dorsal de ratas adultas



Nota. Expresión relativa de ARNm de *Gls* (A); *Gls2* (B); *Gria2* (C); *Grin2a* (D); y *Grin2b* (E). Las columnas representan la media ± SEM (7–10 ratas/subgrupo). Las tablas situadas bajo cada panel muestran los resultados del ANOVA de dos factores. Los valores *p* en negrita indican efectos principales significativos de los factores (“estrés” y “alcohol”) o interacción significativa (“estrés” × “alcohol”). $*p<0,05$ y $**p<0,001$ indican diferencias significativas con respecto al subgrupo control+salino, $^{**}p<0,01$ indica diferencias significativas con respecto al subgrupo estrés agudo+salino, y $^{\&}p<0,05$ indica diferencias significativas con respecto al subgrupo estrés agudo+alcohol utilizando pruebas post hoc para comparaciones múltiples cuando se detecta una interacción entre factores.

Efectos del estrés por inmovilización y del alcohol intermitente sobre la expresión de ARNm de genes de señalización endocannabinoide en el estriado dorsal

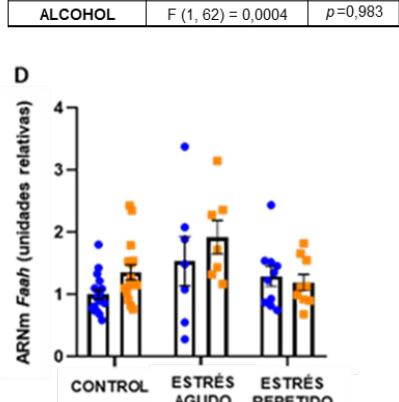
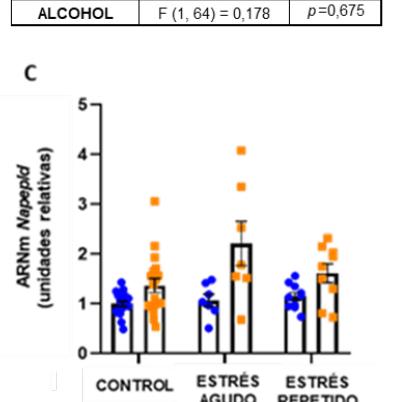
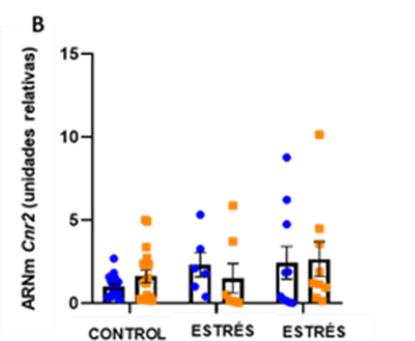
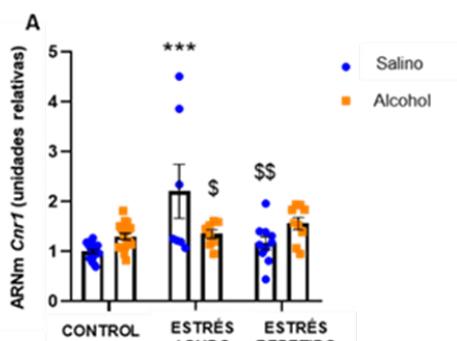
Dado que la actividad del glutamato está regulada por el sistema eCB, el principal sistema de señalización retrógrada en las sinapsis glutamatérgicas, evaluamos los efectos del estrés y/o la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia sobre la expresión de ARNm de genes que codifican receptores y enzimas implicadas en la síntesis, señalización y degradación de eCB.

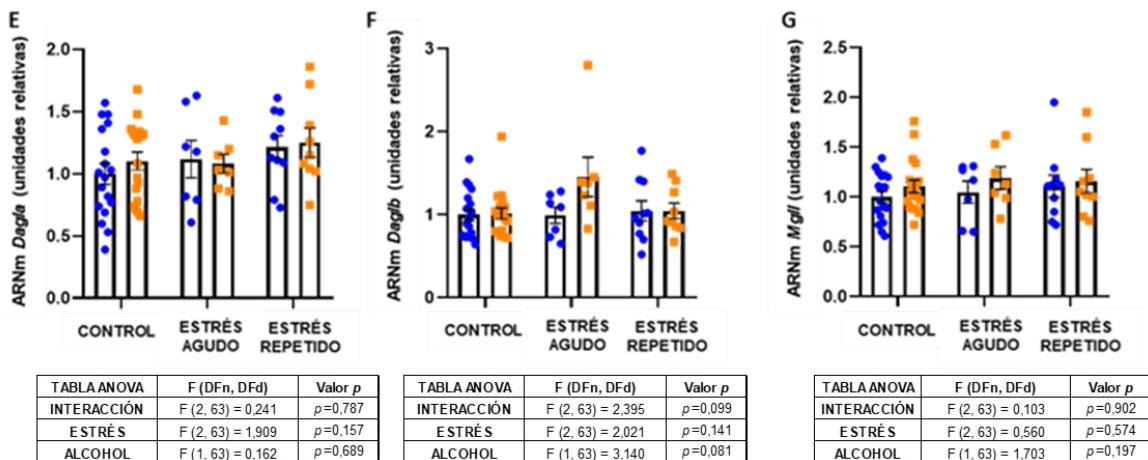
Para la expresión de *Cnr1*, el ANOVA reveló un efecto principal significativo de “estrés”, así como una interacción significativa “estrés” × “alcohol” (Figura 4A). El análisis post hoc mostró un aumento marcado en los niveles de ARNm de *Cnr1* en las ratas estrés agudo+salino en comparación con los subgrupos control+salino ($^{***}p<0,001$), estrés agudo+alcohol ($^{\$}p<0,05$) y estrés repetido+salino ($^{\$\$}p<0,01$), sugiriendo que el estrés repetido contrarrestó el

aumento observado tras el estrés agudo. Por el contrario, no se encontraron efectos significativos de “estrés” o “alcohol” sobre la expresión de *Cnr2* (Figura 4B). En cuanto a las enzimas relacionadas con las aciletanolamidas, el ANOVA reveló efectos principales significativos de “alcohol” y “estrés” sobre la expresión de *Napepld* (Figura 4C). Este efecto fue atribuible al aumento inducido por el alcohol en la expresión de esta enzima en los animales estresados. Específicamente, las ratas expuestas al alcohol mostraron niveles de ARNm de *Napepld* más altos que los animales tratados con salino siendo el efecto más pronunciado en los animales con estrés agudo. Para la expresión de *Faah* (Figura 4D), el ANOVA reveló un efecto principal significativo de “estrés”, con ratas estresadas mostrando niveles de ARNm más altos que los animales no estresados. Finalmente, para las enzimas implicadas en el metabolismo de acilgliceroles, *Dagla* (Figura 4E), *Daglb* (Figura 4F) y *Mgll* (Figura 4G), no se observaron efectos principales significativos de “estrés” o “alcohol”.

Figura 4

Efectos diferenciales del estrés agudo y repetido previo sobre el impacto de la exposición intensiva al alcohol durante la adolescencia en la expresión de ARNm de genes de señalización endocannabinoide en el estriado dorsal de ratas adultas





Nota. Expresión relativa de ARNm de *Cnr1* (**A**); *Cnr2* (**B**); *Napepld* (**C**); *Faah* (**D**); *Dagla* (**E**); *Daglb* (**F**) y *Mgf* (**G**). Las columnas representan la media ± SEM (7-10 ratas/subgrupo). Las tablas situadas bajo cada panel muestran los resultados del ANOVA de dos factores. Los valores *p* en negrita indican efectos principales significativos de los factores (“estrés” y “alcohol”) o interacción significativa (“estrés” × “alcohol”). ****p*<0,001 indica diferencias significativas con respecto al subgrupo control+salino. \$*p*<0,05 y §§*p*<0,01 indican diferencias significativas con respecto al subgrupo estrés agudo+ salino utilizando pruebas post hoc para comparaciones múltiples cuando se detecta una interacción entre factores.

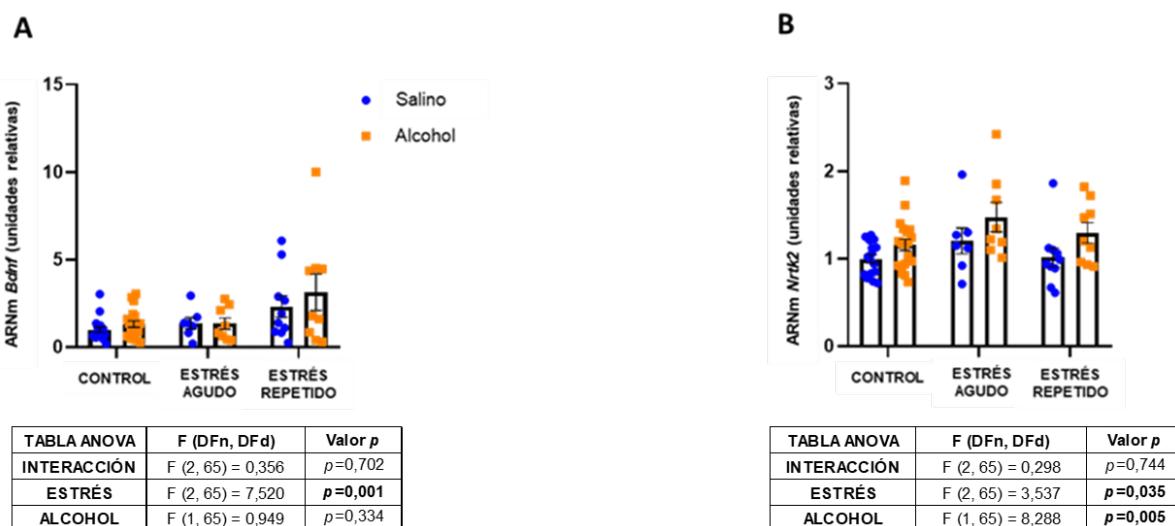
Efectos del estrés por inmovilización y del alcohol intermitente sobre la expresión de ARNm de genes neurotróficos en el estriado dorsal

A continuación, evaluamos los efectos del estrés y/o la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia sobre la expresión de ARNm de *Bdnf* y de su receptor *Ntrk2*. Esta vía neurotrófica representa una importante señal molecular adaptativa en respuesta tanto al estrés como al alcohol.

Como se muestra en la Figura 5A, el análisis estadístico reveló efectos principales significativos de “estrés” sobre la expresión de *Bdnf*. Las ratas estresadas mostraron niveles de ARNm de *Bdnf* más altos que los animales no estresados. En cuanto a su receptor (Figura 5B), el ANOVA reveló efectos principales significativos de “alcohol” y “estrés”. Específicamente, las ratas expuestas al alcohol mostraron niveles de ARNm de *Ntrk2* más altos que los animales tratados con salino. Aunque el ANOVA también indicó un efecto principal del estrés, este efecto fue menos evidente visualmente, probablemente debido a la variabilidad interindividual.

Figura 5

Efectos diferenciales del estrés agudo y repetido previo sobre el impacto de la exposición intensiva al alcohol durante la adolescencia en la expresión de ARNm de genes relacionados con factores neurotróficos en el estriado dorsal de ratas adultas



Nota. Expresión relativa de ARNm de *Bdnf* (**A**) y *Ntrk2* (**B**). Las columnas representan la media ± SEM (7-10 ratas/subgrupo). Las tablas situadas bajo cada panel muestran los resultados del ANOVA de dos factores. Los valores *p* en negrita indican efectos principales significativos de los factores (“estrés” y “alcohol”) o interacción significativa (“estrés” × “alcohol”).

Efectos del estrés por inmovilización y del alcohol intermitente sobre marcadores astrocíticos y microgliales en el estriado dorsal

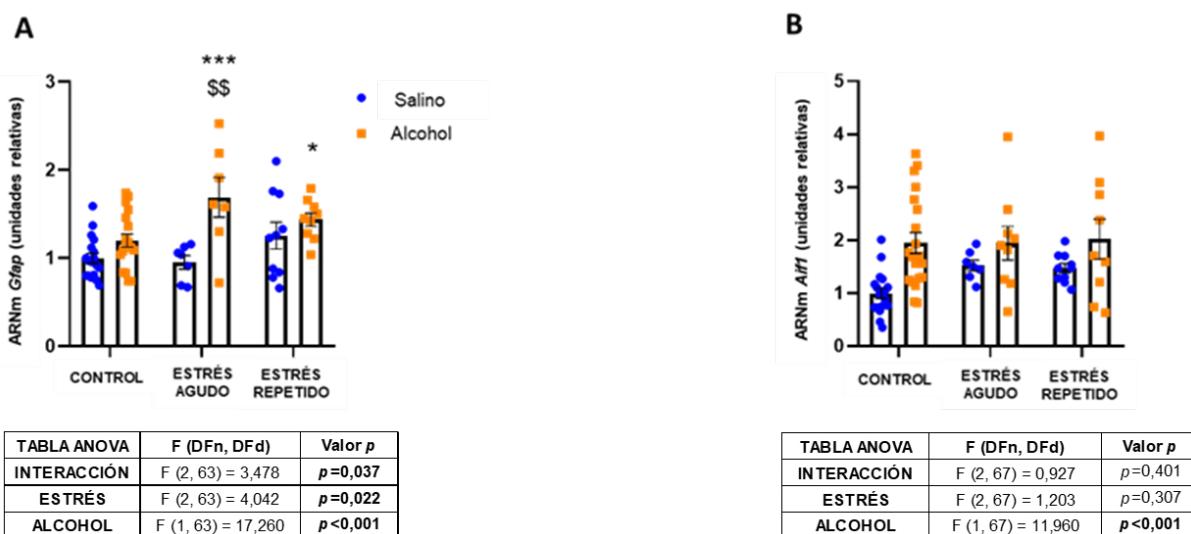
Finalmente, evaluamos los efectos del estrés y/o la exposición intermitente al alcohol durante la adolescencia sobre la expresión de ARNm de *Gfap* y *Aif1*, marcadores de astrocitos y de microglía activada, respectivamente.

El ANOVA reveló efectos principales significativos de “estrés” y “alcohol”, así como una interacción significativa “estrés” × “alcohol” sobre la expresión de *Gfap* (Figura 6A). El análisis post hoc mostró un aumento marcado en

los niveles de ARNm de *Gfap* en los subgrupos estrés agudo+alcohol y estrés repetido+alcohol en comparación con los animales control+salino (** $p<0,001$ y * $p<0,05$, respectivamente). Además, las ratas del subgrupo estrés agudo+alcohol mostraron niveles de ARNm significativamente más altos que el subgrupo estrés agudo+salino (§§ $p<0,01$). Para la microglía, el análisis reveló un efecto principal significativo de “alcohol” sobre la expresión de *Aif1*, independientemente del estrés (Figura 6B). En todos los grupos, las ratas expuestas al alcohol mostraron niveles más altos de ARNm de *Aif1* que los animales tratados con salino.

Figura 6

Efectos diferenciales del estrés agudo y repetido previo sobre el impacto de la exposición intensiva al alcohol durante la adolescencia en la expresión de ARNm de genes marcadores astrocíticos y microgliales en el estriado dorsal de ratas adultas



Nota. Expresión relativa de ARNm de *Gfap* (A) y *Aif1* (B). Las columnas representan la media ± SEM (7–10 ratas/subgrupo). Las tablas situadas bajo cada panel muestran los resultados del ANOVA de dos factores. Los valores *p* en negrita indican efectos principales significativos de los factores (“estrés” y “alcohol”) o interacción significativa (“estrés” × “alcohol”). ** $p<0,001$ indica diferencias significativas con respecto al subgrupo control+salino, y §§ $p<0,01$ indica diferencias significativas con respecto al subgrupo estrés agudo+salino utilizando pruebas post hoc para comparaciones múltiples cuando se detecta una interacción entre factores.

Discusión

El presente estudio confirma que el estrés previo durante la adolescencia modula las consecuencias neurobiológicas de la exposición al alcohol sobre la expresión de genes dopamínergicos, glutamatérgicos, eCB, neurotróficos y gliales en el estriado dorsal. Estas vías fueron seleccionadas debido a su papel central en la plasticidad sináptica estriatal, la regulación del estrés y las neuroadaptaciones inducidas por el alcohol. En conjunto, proporcionan un marco mecanístico amplio para entender cómo el historial de estrés configura los efectos del alcohol durante la adolescencia. Estos hallazgos se suman a la evidencia previa de que los efectos del estrés adolescente son altamente dependientes del contexto, variando según el momento, la intensidad y la cronicidad (Sandi y Piñelo-Nava, 2007). Es importante destacar que los resultados observados aquí fueron claramente dependientes del tipo de exposición al estrés. El estrés agudo potenció la regulación al alza inducida por el alcohol de *Gls*, *Gls2*, *Gria2*, *Napepld*, *Faah*,

Daglb, *Nirk2* y *Gfap*, mientras que el estrés repetido atenuó estos incrementos inducidos por el alcohol, potenciando selectivamente la expresión de *Drd1*, *Drd2*, *Grin2a* y *Bdnf*. Estos hallazgos apoyan la idea de que la inoculación de estrés durante la adolescencia podría producir efectos protectores frente a los daños inducidos por el abuso temprano de alcohol.

La exposición al alcohol aumentó de forma significativa la expresión de *Drd1* y *Drd2* en el estriado dorsal en condiciones de no estrés, pero este efecto desapareció en los animales expuestos a estrés agudo. Por el contrario, el estrés repetido no atenuó esta respuesta, sino que potenció la regulación al alza de los genes de los receptores de dopamina inducida por alcohol. Además de la interacción con el alcohol, cabe señalar que el estrés agudo por sí solo incrementó la expresión de *Drd1* y *Drd2*, mientras que el estrés repetido no lo hizo. Este patrón sugiere que el estrés agudo aumenta transitoriamente la disponibilidad de receptores dopamínergicos que podría facilitar respuestas conductuales adaptativas frente a desa-

fios agudos pero que, si se activa repetidamente por el estrés o la exposición al alcohol, podría contribuir a procesos de refuerzo maladaptativo. La ausencia de este efecto tras una exposición repetida al estrés puede reflejar mecanismos reguladores adaptativos que limitan la sobreactivación dopamínica tras exposiciones repetidas al estrés, consistente con la evidencia de que el estrés crónico o repetido puede atenuar la respuesta dopamínica (Baik, 2020). En conjunto, estos resultados sugieren que el estrés agudo altera transitoriamente las adaptaciones dopamínergicas inducidas por el alcohol, posiblemente activando mecanismos inhibitorios u homeostáticos a corto plazo, mientras que el estrés repetido facilita una regulación compensatoria al alza de los receptores de dopamina. Este patrón es coherente con la sensibilización cruzada entre estrés y alcohol a nivel de las neuronas dopamínergicas mesoestriatales (Cheng et al., 2018; Wilcox et al., 2014). El aumento de la disponibilidad de receptores bajo estrés repetido puede representar una adaptación dirigida a mantener el impulso motivacional, lo que, a su vez, podría aumentar la vulnerabilidad a exposiciones posteriores a alcohol o estrés reforzando la sensibilización dopamínica.

En cuanto a las interacciones alcohol-glutamato, se sabe que el alcohol altera fuertemente la señalización glutamatérgica en los circuitos corticoestriatales, aumentando la liberación presináptica de glutamato y alterando la expresión de subunidades de receptores ionotrópicos, incluidos los componentes AMPAR y NMDAR (Abrahao et al., 2017). Estos cambios impulsan adaptaciones a largo plazo vinculadas al refuerzo y a la búsqueda de alcohol. El aumento inducido por el alcohol en la expresión de *Gls* y *Gls2* observado en nuestro estudio es consistente con un aumento de la síntesis de glutamato a través del ciclo glutamina-glutamato, proporcionando el suministro excitador necesario para sostener el consumo de alcohol en patrón de atracción. El estrés agudo amplificó aún más este efecto, lo que probablemente refleja la facilitación mediada por glucocorticoides de la liberación presináptica de glutamato y el aumento del tráfico de receptores (Popoli et al., 2011; Yuen et al., 2009). Por el contrario, el estrés repetido atenuó la inducción de *Gls/Gls2* por el alcohol, un patrón consistente con una amortiguación adaptativa del tono glutamatérgico que puede representar una forma de metaplasticidad (Franklin et al., 2012). Este patrón se extendió a los receptores ionotrópicos, ya que el alcohol incrementó significativamente los niveles de ARNm de *Gria2* y el estrés agudo potenció esta inducción. Sin embargo, observamos una mayor expresión de *Grin2a* y *Grin2b* en los animales estresados en comparación con los controles no estresados, lo que sugiere que el estrés, más que el alcohol, modula la expresión de subunidades de receptores NMDA en este paradigma. En conjunto, estos resultados sugieren que los aumentos inducidos por el alcohol en la síntesis de glutamato y en la expresión de receptores AMPA son potenciados por el estrés agudo, pero atenuados por el estrés repetido, mien-

tras que el estrés por sí mismo potencia selectivamente la expresión de subunidades de receptores NMDA. Este patrón puede reflejar una modulación adaptativa de la transmisión excitatoria corticoestriatal dependiente del historial de estrés.

Dado que la actividad glutamatérgica está fuertemente regulada por el sistema eCB, también examinamos genes que codifican receptores cannabinoides y enzimas metabólicas. Los receptores CB₁ se expresan densamente en los terminales glutamatérgicos estriatales, donde los eCB como la anandamida (AEA) y el 2-AG actúan retrógradamente para reducir la probabilidad de liberación presináptica y sostener tanto la plasticidad a corto como a largo plazo (Katona y Freud, 2012; Zou y Kumar, 2018). Nuestros datos mostraron una expresión aumentada de *Cnr1* en los animales estrés agudo+salino en comparación con los controles no estresados, mientras que este efecto se atenuó tanto por la exposición al alcohol como por el estrés repetido. Este aumento probablemente refleja un mecanismo compensatorio transitorio dirigido a restaurar el equilibrio homeostático en la transmisión glutamatérgica. El estrés agudo incrementa la liberación de corticosterona, lo que potencia la actividad glutamatérgica en los circuitos corticoestriatales y límbicos (Caudal et al., 2010; Yuen et al., 2009). La elevada expresión de *Cnr1* puede, por tanto, representar una respuesta adaptativa para contrarrestar el impulso excitador inducido por el estrés facilitando la inhibición presináptica mediada por eCB de la liberación de glutamato. Esta interpretación coincide con evidencias previas que muestran que el estrés agudo puede reducir los niveles de AEA mediante un aumento de la actividad de FAAH (Morena et al., 2019), mientras que el estrés repetido a menudo regula a la baja la función de los receptores CB₁ (Morena et al., 2016). Así, los hallazgos actuales refuerzan la idea de que el sistema eCB muestra una adaptación bifásica al estrés, con activación tras la exposición aguda y supresión en condiciones crónicas o repetidas, lo que puede influir de forma crítica en la resiliencia y vulnerabilidad durante la adolescencia. Por el contrario, la expresión de *Cnr2* no mostró cambios significativos, consistente con el papel predominante de los receptores CB₁ en la regulación de la transmisión sináptica estriatal (Lovinger y Mathur, 2012). Además, en este estudio, la exposición al alcohol durante la adolescencia mediante gavage no produjo cambios significativos en la expresión de ARNm de los receptores cannabinoides en el estriado dorsal de animales que no habían sido sometidos a estrés. Estos resultados difieren de los observados previamente por nuestro grupo (Sánchez-Marín et al., 2017), donde la administración intraperitoneal de alcohol, asociada a concentraciones de alcohol en sangre cercanas a 200 mg/dL, provocó una reducción de la expresión de *Cnr1* en el estriado. Una posible explicación de esta discrepancia es que el protocolo de gavage utilizado en el presente estudio generó niveles de alcohol en sangre más bajos (~133–140 mg/dL) y una absorción sistémica más lenta, lo que podría no ser suficiente para inducir cambios detectables

en la expresión génica. Además, el presente estudio analizó específicamente el estriado dorsal, mientras que el estudio anterior evaluó el estriado completo. Dada la heterogeneidad en la expresión de receptores eCB entre subregiones estriatales y en la sensibilidad al alcohol, estas diferencias metodológicas probablemente contribuyen a los resultados divergentes. En cuanto a las enzimas implicadas en el metabolismo de eCB, tanto el alcohol como el estrés influyeron significativamente en la expresión de *Napepld*. La exposición al alcohol incrementó los niveles de ARNm de esta enzima en animales estresados, particularmente en aquellos sometidos a estrés agudo, indicando un aumento en la síntesis de AEA en estas condiciones. Igualmente, la expresión de *Faah* se incrementó por el estrés, sugiriendo una mayor degradación de AEA. La regulación al alza concurrente de *Napepld* y *Faah* implica una alta tasa de recambio de AEA, que potencialmente genera un estado de señalización eCB dinámico pero inestable durante el estrés agudo y la exposición al alcohol. Por el contrario, los genes implicados en el metabolismo de 2-AG (*Dagla*, *Daglb*, *Mgll*) no se vieron significativamente afectados ni por el estrés ni por el alcohol. La ausencia de cambios importantes en estas enzimas indica que la modulación del sistema eCB por estrés y alcohol en el estriado dorsal se centra principalmente en la vía de AEA más que al metabolismo del 2-AG. Estas adaptaciones moleculares pueden representar eventos tempranos que influyen en la regulación a largo plazo de los circuitos de estrés y recompensa. Dirigir intervenciones a componentes específicos del sistema eCB, como FAAH o NAPE-PLD, podría proporcionar estrategias para restaurar la homeostasis y aumentar la resiliencia frente a los cambios neuroplásticos inducidos por el estrés y el alcohol.

Tanto el estrés agudo como el repetido aumentaron la expresión de *Bdnf* en el estriado dorsal, siendo niveles ligeramente superiores con estrés repetido. Además, el grupo estrés repetido+alcohol mostró visualmente un mayor aumento, sugiriendo una posible tendencia aditiva. Estas observaciones indican que la exposición al estrés puede impulsar aumentos adaptativos de *Bdnf*, resaltando un posible mecanismo de resiliencia. La señalización BDNF-TrkB sostiene la plasticidad sináptica y el remodelado estructural, facilitando respuestas adaptativas a los desafíos ambientales (Lotan et al., 2018). El aumento de la expresión de BDNF se ha relacionado con la inoculación de estrés en modelos preclínicos (Chaby et al., 2020; Sircar, 2020) y, en este contexto, puede proteger contra la neurotoxicidad inducida por el alcohol.

Nuestros resultados también distinguen entre las respuestas microgliales y astrocíticas al alcohol. La expresión de *Aif1* se incrementó de forma significativa por el alcohol en todos los grupos, consistente con la activación directa de la microglía por el alcohol vía TLR4 (Alfonso-Loeches et al., 2010). Estos resultados indican que la activación microglial en el estriado dorsal estuvo asociada principalmente a la exposición al alcohol más que al estrés, sugiriendo que el estrés por sí solo no fue suficiente para alterar la expresión génica

microglial en estas condiciones. Por el contrario, la expresión de *Gfap* se vio incrementada en los grupos estrés agudo+alcohol y estrés repetido+alcohol en comparación con los controles sin estrés, con el mayor aumento en el grupo estrés agudo+alcohol, lo que indica que la reactividad astrocítica inducida por el alcohol es más sensible al historial de estrés y puede ser atenuada por la inoculación de estrés.

En conjunto, estos resultados sugieren un modelo unificado de interacción estrés-alcohol en la adolescencia. Bajo la condición estrés agudo+alcohol, la liberación de glutamato impulsada por glucocorticoïdes actúa de forma sinérgica con los efectos excitatorios del alcohol, aumentando la expresión de *Gls/Gls2* y potenciando *Gria2*. Al mismo tiempo, el aumento de *Napepld* y *Faah* intenta limitar la excitación a través de la señalización CB₁, mientras que las respuestas astrocíticas y microglial contribuyen a cascadas neuroinflamatorias. Por el contrario, el estrés repetido+alcohol activa mecanismos protectores de metaplasticidad: amortiguando la inducción por alcohol de genes del metabolismo glutamatérgico y de *Napepld*, favoreciendo la subunidad *Grin2a* de los receptores NMDA y aumentando *Bdnf*. Estas adaptaciones reflejan la inoculación de estrés, en la que el estrés repetido previo reconfigura los circuitos estriatales para amortiguar perturbaciones posteriores (Franklin et al., 2012). Aunque en este estudio se examinaron múltiples sistemas de señalización, nuestro objetivo fue captar las adaptaciones moleculares coordinadas que emergen de la interacción estrés-alcohol, más que aislar una única vía. Los sistemas dopaminérgico, glutamatérgico y eCB, junto con los mecanismos neurotróficos y gliales, forman una red integrada que regula la respuesta al estrés, la recompensa y la plasticidad sináptica. Identificar cómo interactúan estas vías proporciona una comprensión a nivel de sistema sobre resiliencia y vulnerabilidad. No obstante, nuestros resultados señalan dianas terapéuticas específicas que merecen una exploración más profunda, en particular la modulación del metabolismo eCB y la señalización BDNF-TrkB, ambas aparentemente capaces de amortiguar el impacto neurotóxico de la exposición al alcohol en la adolescencia. Las intervenciones farmacológicas dirigidas a estos mecanismos podrían representar estrategias prometedoras para restaurar el equilibrio corticoestriatal y promover la resiliencia al estrés.

Para situar estos hallazgos en un contexto más amplio, estos resultados en el estriado dorsal deben interpretarse junto con nuestros estudios previos que examinan los efectos del estrés y la exposición al alcohol durante la adolescencia en otras regiones cerebrales relacionadas con el estrés, como el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal medial (Sanchez-Marín et al., 2022a; Sanchez-Marín et al., 2022b; Verheul-Campos et al., 2025). En particular, estos estudios muestran que el estrés agudo durante la adolescencia produce alteraciones duraderas en la señalización glutamatérgica y eCB en la amígdala, que se ven además moduladas por la exposición concurrente al alcohol (Sanchez-Marín et al., 2022b). Del mismo modo, el estrés repetido y la exposición al

alcohol en la adolescencia inducen cambios transcripcionales y conductuales duraderos en el hipocampo y la corteza prefrontal medial (Sanchez-Marin et al., 2022; Verheul-Campos et al., 2025). Junto con los hallazgos presentes, estos resultados sugieren que el historial de estrés modula la neuroplasticidad inducida por el alcohol en múltiples nodos corticolímbicos y estriatales, configurando vulnerabilidad o resiliencia en función del patrón temporal y la intensidad de la exposición al estrés. Estudios futuros deberán ampliar estas investigaciones para determinar si existen mecanismos similares en otras regiones sensibles al estrés, como el hipotálamo, y para caracterizar mejor el impacto del estrés agudo en estas estructuras interconectadas. Este enfoque integrador ayudará a aclarar cómo la experiencia de estrés reorganiza las redes neuronales que median la psicopatología relacionada con el alcohol.

Conclusión

Este estudio demuestra que las consecuencias neurobiológicas de la exposición al alcohol durante la adolescencia están críticamente determinadas por el historial de estrés previo. El estrés agudo sensibiliza los sistemas excitatorio y endocannabinoide, exacerbando el impacto del alcohol sobre las vías glutamatérgicas y astrocíticas, mientras que el estrés repetido atenúa estos efectos y activa adaptaciones dopamínergicas y neurotróficas consistentes con la resiliencia. Estos hallazgos respaldan a nivel molecular a la hipótesis de la inoculación de estrés y resaltan la importancia de considerar el historial de estrés al evaluar la vulnerabilidad frente a la resiliencia al alcohol durante el desarrollo.

Limitaciones

Una limitación clave es que solo se estudiaron animales machos. Dada la evidencia de que las hembras muestran una resiliencia relativa frente a la neurotoxicidad inducida por el alcohol debido a la neuroprotección dependiente de esteroides sexuales, la generalización de estos hallazgos es limitada. Futuros estudios deberían incorporar ambos sexos y examinar correlaciones conductuales, como la sensibilidad a la recompensa y la flexibilidad cognitiva, para relacionar mejor los cambios transcripcionales con los resultados funcionales. Además, aunque se cuantificó la expresión génica, es necesario medir los niveles proteicos y realizar ensayos funcionales para confirmar los efectos posteriores sobre la fisiología sináptica.

Agradecimientos

El presente estudio fue apoyado por las siguientes ayudas: Proyectos financiados por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciados por la Unión Europea y el ERDF-EU (PI20/01399, PI22/00427 y PI22/01833); Programa RICORS RIAPAD financiado por ISCIII y cofinanciado por la Unión Europea (RD21/0009/0003 y

RD24/0003/0012); Proyecto financiado por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad y Consumo (PNSD2022/020); Programa Fortalece financiado por ISCIII, Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FORT23/00013).

Conflictos de interés

Los autores no declaran intereses financieros biomédicos ni posibles conflictos de interés.

Referencias

- Abrahao, K. P., Salinas, A. G. y Lovinger, D. M. (2017). Alcohol and the Brain: Neuronal Molecular Targets, Synapses, and Circuits. *Neuron*, 96(6), 1223-1238. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.032>
- Alfonso-Löches, S., Pascual-Lucas, M., Blanco, A. M., Sanchez-Vera, I. y Guerri, C. (2010). Pivotal role of TLR4 receptors in alcohol-induced neuroinflammation and brain damage. *J Neurosci*, 30(24), 8285-8295. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0976-10.2010>
- Baik, J. H. (2020). Stress and the dopaminergic reward system. *Exp Mol Med*, 52(12), 1879-1890. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-00532-4>
- Binder, D. K. y Scharfman, H. E. (2004). Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*, 22(3), 123-131. <https://doi.org/10.1080/08977190410001723308>
- Boutros, N., Der-Avakanian, A., Kesby, J. P., Lee, S., Markou, A. y Semenova, S. (2018). Effects of adolescent alcohol exposure on stress-induced reward deficits, brain CRF, monoamines and glutamate in adult rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 235(3), 737-747. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4789-0>
- Carrara-Nascimento, P. F., Griffin, W. C., 3rd, Pastrello, D. M., Olive, M. F. y Camarini, R. (2011). Changes in extracellular levels of glutamate in the nucleus accumbens after ethanol-induced behavioral sensitization in adolescent and adult mice. *Alcohol*, 45(5), 451-460. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2011.01.002>
- Carrara-Nascimento, P. F., Hoffmann, L. B., Florio, J. C., Plante, C. S. y Camarini, R. (2020). Effects of Ethanol Exposure During Adolescence or Adulthood on Locomotor Sensitization and Dopamine Levels in the Reward System. *Front Behav Neurosci*, 14, 31. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00031>
- Caudal, D., Godsil, B. P., Mailliet, F., Bergerot, D. y Jay, T. M. (2010). Acute stress induces contrasting changes in AMPA receptor subunit phosphorylation within the prefrontal cortex, amygdala and hippocampus. *PLoS One*, 5(12), e15282. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015282>
- Chaby, L. E., Sadik, N., Burson, N. A., Lloyd, S., O'Donnell, K., Winters, J.,... Perrine, S. A. (2020). Repeated stress exposure in mid-adolescence attenuates behavioral, noradrenergic, and epigenetic effects of trauma-like stress in early adult

- male rats. *Sci Rep*, 10(1), 17935. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74481-3>
- Cheng, Y., Wang, X., Wei, X., Xie, X., Melo, S., Miranda, R. C. y Wang, J. (2018). Prenatal Exposure to Alcohol Induces Functional and Structural Plasticity in Dopamine D1 Receptor-Expressing Neurons of the Dorsomedial Striatum. *Alcohol Clin Exp Res*. <https://doi.org/10.1111/acer.13806>
- Clabough, E., Ingwersen, J., Reekes, T., Gleichsner, A. y Ryan, A. (2021). Acute Ethanol Exposure during Synaptogenesis Rapidly Alters Medium Spiny Neuron Morphology and Synaptic Protein Expression in the Dorsal Striatum. *Int J Mol Sci*, 23(1). <https://doi.org/10.3390/ijms23010290>
- Dannenhoffer, C. A., Gomez, A. A., Macht, V. A., Jawad, R., Sutherland, E. B., Vetrone, R. P.,...Robinson, D. L. (2022). Impact of adolescent intermittent ethanol exposure on interneurons and their surrounding perineuronal nets in adulthood. *Alcohol Clin Exp Res*, 46(5), 759-769. <https://doi.org/10.1111/acer.14810>
- Favoretto, C. A., Bertagna, N. B., Anjos-Santos, A., Loss, C. M., Rodolpho, B. T., Righi, T.,...Cruz, F. C. (2025). Impacts of maternal separation stress on ethanol intake and endocannabinoid system in adolescent mice. *Neuroscience*, 565, 124-137. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2024.11.037>
- Franklin, T. B., Saab, B. J. y Mansuy, I. M. (2012). Neural mechanisms of stress resilience and vulnerability. *Neuron*, 75(5), 747-761. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.016>
- Galaj, E., Kipp, B. T., Floresco, S. B. y Savage, L. M. (2019). Persistent Alterations of Accumbal Cholinergic Interneurons and Cognitive Dysfunction after Adolescent Intermittent Ethanol Exposure. *Neuroscience*, 404, 153-164. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.01.062>
- Gass, J. T., Glen, W. B., Jr., McGonigal, J. T., Trantham-Davidson, H., Lopez, M. F., Randall, P. K.,...Chandler, L. J. (2014). Adolescent alcohol exposure reduces behavioral flexibility, promotes disinhibition, and increases resistance to extinction of ethanol self-administration in adulthood. *Neuropsychopharmacology*, 39(11), 2570-2583. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.109>
- Hauser, S. R., Mulholland, P. J., Truitt, W. A., Waeiss, R. A., Engleman, E. A., Bell, R. L. y Rodd, Z. A. (2021). Adolescent Intermittent Ethanol (AIE) Enhances the Dopaminergic Response to Ethanol within the Mesolimbic Pathway during Adulthood: Alterations in Cholinergic/Dopaminergic Genes Expression in the Nucleus Accumbens Shell. *Int J Mol Sci*, 22(21). <https://doi.org/10.3390/ijms22211733>
- Hoops, D. y Flores, C. (2017). Making Dopamine Connections in Adolescence. *Trends Neurosci*, 40(12), 709-719. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.09.004>
- Huntley, E. D., Marusak, H. A., Berman, S. E., Zundel, C. G., Hatfield, J. R. B., Keating, D. P. y Rabinak, C. A. (2020). Adolescent substance use and functional connectivity between the ventral striatum and hippocampus. *Behav Brain Res*, 390, 112678. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112678>
- Johnson, K. A., Liput, D. J., Homanics, G. E. y Lovinger, D. M. (2020). Age-dependent impairment of metabotropic glutamate receptor 2-dependent long-term depression in the mouse striatum by chronic ethanol exposure. *Alcohol*, 82, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2019.06.003>
- Juliano, V. A. L., Albernaz-Mariano, K. A., Covre, L. H. H., Juca, P. M., Pereira, R. M., Shigeo-de-Almeida, A.,...Munhoz, C. D. (2025). Neurobiological intersections of stress and substance use disorders. *Front Neurosci*, 19, 1548372. <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1548372>
- Katona, I. y Freund, T. F. (2012). Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci*, 35, 529-558. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150420>
- Logrip, M. L., Barak, S., Warnault, V. y Ron, D. (2015). Corticostratial BDNF and alcohol addiction. *Brain Res*, 1628(Pt A), 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.03.025>
- Lotan, A., Lifschitz, T., Wolf, G., Keller, S., Ben-Ari, H., Tatarsky, P.,...Lerer, B. (2018). Differential effects of chronic stress in young-adult and old female mice: cognitive-behavioral manifestations and neurobiological correlates. *Mol Psychiatry*, 23(6), 1432-1445. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.237>
- Lovinger, D. M. y Mathur, B. N. (2012). Endocannabinoids in striatal plasticity. *Parkinsonism Relat Disord*, 18 Suppl 1(Suppl 1), S132-134. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(11\)70041-4](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(11)70041-4)
- Lyons, D. M. y Parker, K. J. (2007). Stress inoculation-induced indications of resilience in monkeys. *J Trauma Stress*, 20(4), 423-433. <https://doi.org/10.1002/jts.20265>
- Morena, M., Aukema, R. J., Leitl, K. D., Rashid, A. J., Vecchiarelli, H. A., Josselyn, S. A. y Hill, M. N. (2019). Upregulation of Anandamide Hydrolysis in the Basolateral Complex of Amygdala Reduces Fear Memory Expression and Indices of Stress and Anxiety. *J Neurosci*, 39(7), 1275-1292. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2251-18.2018>
- Morena, M., Patel, S., Bains, J. S. y Hill, M. N. (2016). Neurobiological Interactions Between Stress and the Endocannabinoid System. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 80-102. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.166>
- Morris, L. S., Dowell, N. G., Cercignani, M., Harrison, N. A. y Voon, V. (2018). Binge drinking differentially affects cortical and subcortical microstructure. *Addict Biol*, 23(1), 403-411. <https://doi.org/10.1111/adb.12493>
- Murakami, S., Imbe, H., Morikawa, Y., Kubo, C. y Senba, E. (2005). Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. *Neurosci Res*, 53(2), 129-139. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.06.008>
- O'Tousa, D. y Grahame, N. (2014). Habit formation: implications for alcoholism research. *Alcohol*, 48(4), 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2014.02.004>
- Pascual, M., Boix, J., Felipo, V. y Guerri, C. (2009). Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat. *J Neu-*

- rochem, 108(4), 920-931. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05835.x*
- Paxinos, G. y Watson, C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press, Spiral Bound.
- Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S. y Sanacora, G. (2011). The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci, 13(1)*, 22-37. <https://doi.org/10.1038/nrn3138>
- Portero-Tresserra, M., Gracia-Rubio, I., Cantacorps, L., Pozo, O. J., Gomez-Gomez, A., Pastor, A.,...Valverde, O. (2018). Maternal separation increases alcohol-drinking behaviour and reduces endocannabinoid levels in the mouse striatum and prefrontal cortex. *Eur Neuropsychopharmacol, 28(4)*, 499-512. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2018.02.003>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Perez, C., Manzanedo, C., Minarro, J. y Rodriguez-Arias, M. (2025). Voluntary wheel running during adolescence prevents the increase in ethanol intake induced by social defeat in male mice. *Psychopharmacology (Berl), 242(5)*, 979-996. <https://doi.org/10.1007/s00213-023-06461-0>
- Salinas, A. G., Nadel, J. A., Mateo, Y., Huynh, T., Augustin, S. M., Pacak, K. y Lovinger, D. M. (2022). Chronic Ethanol Consumption Alters Presynaptic Regulation of Dorsal Striatal Dopamine Release in C57BL/6J Mice. *Int J Mol Sci, 23(19)*. <https://doi.org/10.3390/ijms231910994>
- Sanchez-Marin, L., Flores-Lopez, M., Gavito, A. L., Suarez, J., Pavon-Moron, F. J., de Fonseca, F. R. y Serrano, A. (2022a). Repeated Restraint Stress and Binge Alcohol during Adolescence Induce Long-Term Effects on Anxiety-like Behavior and the Expression of the Endocannabinoid System in Male Rats. *Biomedicines, 10(3)*. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030593>
- Sanchez-Marin, L., Flores-Lopez, M., Pastor, A., Gavito, A. L., Suarez, J., de la Torre, R.,...Serrano, A. (2022b). Acute stress and alcohol exposure during adolescence result in an anxious phenotype in adulthood: Role of altered glutamate/endocannabinoid transmission mechanisms. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 113*, 110460. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110460>
- Sanchez-Marin, L., Gavito, A. L., Decara, J., Pastor, A., Castilla-Ortega, E., Suarez, J.,...Serrano, A. (2020). Impact of intermittent voluntary ethanol consumption during adolescence on the expression of endocannabinoid system and neuroinflammatory mediators. *Eur Neuropsychopharmacol, 33*, 126-138. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.01.012>
- Sanchez-Marin, L., Pavon, F. J., Decara, J., Suarez, J., Gavito, A., Castilla-Ortega, E.,...Serrano, A. (2017). Effects of Intermittent Alcohol Exposure on Emotion and Cognition: A Potential Role for the Endogenous Cannabinoid System and Neuroinflammation. *Front Behav Neurosci, 11*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00015>
- Sandi, C. y Pinelo-Nava, M. T. (2007). Stress and memory: behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plast, 2007*, 78970. <https://doi.org/10.1155/2007/78970>
- Shnitko, T. A., Spear, L. P. y Robinson, D. L. (2016). Adolescent binge-like alcohol alters sensitivity to acute alcohol effects on dopamine release in the nucleus accumbens of adult rats. *Psychopharmacology (Berl), 233(3)*, 361-371. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4106-8>
- Sircar, R. (2020). Repeated unpredictable stress blunts alcohol-induced memory deficit in adolescent rat. *Neuroreport, 31(15)*, 1090-1095. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001519>
- Van Waes, V., Darnaudery, M., Marrocco, J., Gruber, S. H., Talavera, E., Mairesse, J.,...Morley-Fletcher, S. (2011). Impact of early life stress on alcohol consumption and on the short- and long-term responses to alcohol in adolescent female rats. *Behav Brain Res, 221(1)*, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.02.033>
- Verheul-Campos, J., Sanchez-Marin, L., Lopez, Y., Gavito, A. L., Grandes, P., Serrano, P.,...de Fonseca, F. R. (2025). Prior restraint stress counteracts memory deficits associated with adolescent alcohol exposure by targeting both the hippocampal endocannabinoid and glutamatergic systems. *Drug Alcohol Depend, 276*, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2025.112891>
- Vrettou, M., Granholm, L., Todkar, A., Nilsson, K. W., Wallen-Mackenzie, A., Nylander, I. y Comasco, E. (2017). Ethanol affects limbic and striatal presynaptic glutamatergic and DNA methylation gene expression in outbred rats exposed to early-life stress. *Addict Biol, 22(2)*, 369-380. <https://doi.org/10.1111/adb.12331>
- Wilcox, M. V., Cuzon Carlson, V. C., Sherazee, N., Sprow, G. M., Bock, R., Thiele, T. E.,...Alvarez, V. A. (2014). Repeated binge-like ethanol drinking alters ethanol drinking patterns and depresses striatal GABAergic transmission. *Neuropsychopharmacology, 39(3)*, 579-594. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.230>
- Yuen, E. Y., Liu, W., Karatsoreos, I. N., Feng, J., McEwen, B. S. y Yan, Z. (2009). Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A, 106(33)*, 14075-14079. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906791106>
- Zandy, S. L., Matthews, D. B., Tokunaga, S., Miller, A., Blaha, C. D. y Mittleman, G. (2015). Reduced dopamine release in the nucleus accumbens core of adult rats following adolescent binge alcohol exposure: age and dose-dependent analysis. *Psychopharmacology (Berl), 232(4)*, 777-784. <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3712-1>
- Zou, S. y Kumar, U. (2018). Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *Int J Mol Sci, 19(3)*. <https://doi.org/10.3390/ijms19030833>



ORIGINAL

Estudio de la ruta neurotrófica Pleiotrofina/PTPRZ en el hipocampo de ratas expuestas a consumo crónico de alcohol y/o deficiencia de tiamina

Study of the Pleiotrophin/PTPRZ neurotrophic pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic alcohol consumption and/or thiamine deficiency

ROSARIO LÓPEZ-RODRÍGUEZ*, **, ***; MARTA MOYA****; ESTHER GRAMAGE*, **, ***;
GONZALO HERRADÓN*, **, ***; LAURA ORIO⁺, ****, *****.

*Departamento de Ciencias de la Salud y Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España.

**Instituto de Estudios de las Adicciones, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España.

***Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones, Instituto de Salud Carlos III, MICINN y FEDER, Madrid, España.

****Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

*****Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario 12 de Octubre (imas12), Madrid, España.

⁺ Ambos autores contribuyeron por igual.

Resumen

La encefalopatía de Wernicke (WE) es una enfermedad neurológica causada por la deficiencia de tiamina (TD) cuyo principal factor de riesgo es el trastorno por uso del alcohol. El objetivo de este estudio es explorar el perfil de expresión de genes candidatos relacionados con neuroinflamación, disfunción mitocondrial y metabolismo de la tiamina en el hipocampo de animales expuestos a consumo crónico de alcohol (CA), una dieta deficiente en tiamina (TDD) o la combinación de ambos.

Se analizaron un total de 42 ratas Wistar macho incluidas en 4 grupos experimentales: control (C) que recibieron agua o agua suplementada con tiamina (0,2 g/L), alcohol crónico (CA) durante 36 semanas, dieta TD y piritiamina durante 12 días (TDD) y un grupo que combinaba CA+TDD. La expresión relativa de factores neurotróficos (*Ptn*, *Mdk*, *Ptpz*), factores proinflamatorios (*Trh4*, *Cel2* y *Hmgb1*), proteínas implicadas en homeostasis mitocondrial (*Mfn1* y *Mfn2*) y enzimas del metabolismo de la tiamina (*Tpk1*) se determinó a partir de ARNm obtenido del hipocampo de los distintos grupos experimentales. El análisis estadístico se realizó mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis.

La expresión de *Ptpz* tendía a ser menor en el grupo TDD comparado con el grupo C (no significativo) mientras que la disminución de *Ptpz* observada en el grupo TDD fue estadísticamente significativa cuando se comparaba con el grupo CA+TDD ($p<0,05$). Además, el grupo TDD mostró los menores niveles de expresión de *Ptn* y esta disminución fue estadísticamente significativa comparada con los grupos C y CA ($p<0,05$).

Nuestros resultados indican un perfil diferencial de expresión de la ruta PTN-MDK-PTPRZ en el hipocampo de ratas con una dieta TD distinto al observado en el resto de los modelos de encefalopatía WE analizados (CA y CA+TDD).

Palabras clave: Wernicke, Korsakoff, deficiencia de tiamina, pleiotrofina, receptor proteína tirosina Fosfatasa Z, neuroinflamación, hipocampo

Abstract

Wernicke's encephalopathy (WE) is caused by thiamine deficiency (TD) whose main risk factor is alcohol use disorder. Pathogenic mechanisms associated with WE include mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neuroinflammation. This study aims to explore the gene expression signature of certain candidate genes related to neuroinflammation, mitochondrial dysfunction and thiamine metabolism in the hippocampus from animals exposed to chronic alcohol consumption, thiamine deficiency or the combination of both.

Male Wistar rats (n=42) were randomly assigned to 4 experimental groups: control (C) receiving tap water or tap water plus thiamine (0.2 g/L), chronic alcohol (CA) forced ingestion for 36 weeks, TD diet and pyritinamine for 12 days (TDD) and CA combined with TDD. The relative gene expression of neurotrophic factors (*Ptn*, *Mdk*, *Ptpz*), proinflammatory molecules (*Trh4*, *Cel2* and *Hmgb1*), mitochondrial homeostatic factors (*Mfn1* and *Mfn2*) and thiamine metabolism (*Tpk1*) was analyzed in RNA isolated from the hippocampus across all experimental groups. Differences in gene expression were assessed using non-parametric tests (Kruskal-Wallis).

Ptpz mRNA levels tended to be downregulated in the TDD group compared to controls ($p=0,06$, non-significant) and levels were significantly decreased related to the CA+TDD group ($p<0,05$). TDD group showed the lowest expression levels of *Ptn* across all experimental groups, and this decrease was statistically significant compared to the control and CA groups ($p<0,05$).

Our findings indicate a differential gene expression profile of the PTN-MDK-PTPRZ axis in the hippocampus of rats receiving a TD diet but not in the rest of the WE models analyzed (CA and CA+TDD).

Keywords: Wernicke, Korsakoff, thiamine deficiency, pleiotrophin, Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Z, neuroinflammation, hippocampus

■ Recibido: Julio 2025; Aceptado: Noviembre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

Enviar correspondencia a:

Laura Orio. Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Email: lorio@psi.ucm.es

Gonzalo Herradón. Departamento de Ciencias de la Salud y Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, Universidades CEU, Madrid, España. Email: herradon@ceu.es

La tiamina es una vitamina esencial (B1) adquirida a través de la dieta cuya forma activa, la tiamina pirofosfato, es un cofactor necesario para enzimas cruciales implicadas en el metabolismo energético (Jhala y Hazell, 2011; Zhao et al., 2014). La deficiencia de tiamina (TD) se ha asociado con disfunción mitocondrial, aumento del estrés oxidativo y nitrosativo y activación de procesos inflamatorios y de daño celular (Moya et al., 2021; Moya et al., 2022b). La desregulación de esos procesos debido a la TD se asocia con diferentes trastornos neurológicos (Abdou y Hazell, 2015; Cassiano et al., 2022; Jhala y Hazell, 2011; Martin et al., 2003; Moya et al., 2022a).

La encefalopatía de Wernicke (WE) es una afección neurológica aguda y grave causada por TD. La principal causa de WE es el trastorno por consumo de alcohol (AUD), aunque la WE también se ha descrito en pacientes con afecciones no relacionadas con el alcohol, como la enfermedad inflamatoria intestinal, la anorexia nerviosa o en pacientes tras cirugías bariátricas (Eva et al., 2023; Kohnke y Meek, 2021). El diagnóstico del trastorno se realiza con frecuencia de forma post mortem mediante estudios de neuroimagen, con estudios de autopsias que informan de una prevalencia de WE entre el 0,4–2,8% y la mayoría de los casos asociados al abuso de alcohol (Abdou y Hazell, 2015; Li y Xing, 2025). Muy pocos casos (20%) parecen identificarse antemortem, y esta tasa de diagnóstico erróneo es alarmantemente alta en la WE no alcohólica. El trastorno se diagnostica por una tríada clásica de síntomas (encefalopatía, oftalmoplejía y ataxia), pero los tres componentes se observan únicamente en un 16% de los pacientes, la mayoría mostrando solo uno o dos componentes y algunos de ellos mostrando una condición infrecuente sin síntomas clásicos, especialmente en las primeras etapas de la WE no alcohólica (Li y Xing, 2025). Otros síntomas principales de la WE incluyen alteraciones cognitivas (confusión, desinhibición) y motoras (nictagmo, pérdida de equilibrio, alteraciones de la marcha, entre otras) (Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Si no se trata, la WE puede progresar a una afección neurológica más grave llamada síndrome de Korsakoff (WKS), por lo que puede considerarse un continuo, denominado síndrome de Wernicke-Korsakoff (Hammoud y Jimenez-Shahed, 2019), que se caracteriza por trastornos de la memoria (amnesia anterógrada y retrógrada) y síntomas psiquiátricos (confabulación y psicosis) (Arts et al., 2017; Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Estudios de neuroimagen en pacientes con WE y WKS identificaron daño cerebral en diferentes áreas, siendo el tálamo, los cuerpos mamilares, el hipocampo, los lóbulos frontales o el cerebelo algunas de las áreas más afectadas (Jung et al., 2012). Actualmente, la WE puede tratarse con suplementación de tiamina para evitar la progresión del trastorno, pero no existe evidencia de una

terapia farmacológica beneficiosa para tratar el daño neurológico en el WKS (Arts et al., 2017; Sahu et al., 2025).

La modulación de la respuesta inmunitaria en el sistema nervioso central (SNC), especialmente la respuesta innata mediada por células gliales, ayuda a restaurar y minimizar el daño causado por agresiones patógenas y tóxicas (Chew et al., 2006; Gomez-Nicola y Perry, 2015; Jung et al., 2019; Kielian, 2016; Lehnhardt, 2010). Sin embargo, las respuestas neuroinflamatorias crónicas debido a agresiones persistentes o desequilibrios en los mecanismos homeostáticos contribuyen a una variedad de afecciones neurológicas (Gomez-Nicola y Perry, 2015; Jung et al., 2019; Kielian, 2016). La neuroinflamación sostenida es también uno de los mecanismos patogénicos propuestos en la WE (Abdou y Hazell, 2015; Cassiano et al., 2022; Moya et al., 2022a; Moya et al., 2022b; Moya et al., 2021; Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014). En este sentido, se observó una regulación al alza de las principales citocinas proinflamatorias (como IL1 β , IL6, TNF α o MCP1) y un incremento de los marcadores de activación microglial en diferentes áreas cerebrales (tálamo, colículo inferior o hipocampo, entre otras) en modelos de WE (Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014). De manera interesante, hallazgos previos mostraron una regulación al alza de la vía de señalización TLR4/MyD88 en el mismo modelo de WE utilizado en este estudio, específicamente en la corteza frontal y el cerebelo (Moya et al., 2022a; Moya et al., 2021). Pleiotrofina (PTN) y Midkina (MDK) son factores neurotróficos que actúan como reguladores de la neuroinflamación en diversas afecciones neurológicas (Cañeque-Rufo et al., 2025; del Campo et al., 2021; Fernández-Calle et al., 2018, 2020; Rodríguez-Zapata et al., 2024; Vicente-Rodríguez et al., 2014; Vicente-Rodríguez et al., 2016). Mientras que la expresión de PTN alcanza su pico en el nacimiento y se mantienen niveles detectables en la edad adulta, la expresión de MDK se produce principalmente durante el desarrollo embrionario y puede inducirse en adultos por diferentes formas de lesión tisular (Ross-Munro et al., 2020). PTN y MDK se unen a diferentes receptores, aunque el receptor tirosina fosfatasa tipo Z (PTPRZ, también conocido como RP-TPR β/ζ) parece ser el más implicado en la regulación de la neuroinflamación debido a su expresión principal en el SNC (González-Castillo et al., 2015; Herradon et al., 2019; Ross-Munro et al., 2020). PTN y MDK inhiben la actividad tirosina fosfatasa intrínseca de PTPRZ aumentando los niveles de fosforilación de sus sustratos como β -catenina, Fyn o ALK (Herradon et al., 2019; Maeda et al., 1999). Se ha encontrado PTN y MDK regulados al alza en diversas patologías con un contexto neuroinflamatorio como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la lesión cerebral o tras la administración de drogas de abuso (anfetamina o cocaína) (Herradon et al., 2019). En relación con el consumo de alcohol (princi-

pal factor de riesgo de WE y WKS), PTN también se reguló al alza tras una administración aguda de etanol en la corteza prefrontal del ratón (Vicente-Rodríguez et al., 2014) y también se observó un incremento de MDK en la corteza frontal de pacientes con AUD (Flatscher-Bader y Wilce, 2008).

Estudios recientes han revelado el importante papel de la vía PTN-RPTPZ en los procesos hipocampales. De manera interesante, la pérdida de neurogénesis hipocampal inducida por la exposición al etanol durante la adolescencia se regula mediante la administración de un inhibidor selectivo de RPTPZ, MY10. La administración de MY10 en ratones previno completamente la pérdida de neurogénesis hipocampal causada por la exposición aguda al etanol durante la adolescencia (Galán-Llario et al., 2023a). Además, estudios previos han revelado evidencia de diferencias específicas por sexo en los efectos del alcohol intermitente crónico sobre las respuestas gliales y la neurogénesis hipocampal (Galán-Llario et al., 2023b). Aparte de la neuroinflamación inducida por alcohol, otros estudios sugieren que los niveles endógenos de PTN desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta sistémica aguda al lipopolisacárido (LPS) y los cambios microgliales hipocampales en ratones adultos jóvenes, así como en la regulación de los efectos a largo plazo del LPS sobre la respuesta astrocitaria y la neurogénesis en el hipocampo (Rodríguez-Zapata et al., 2024). Sin embargo, el papel modulador de PTN-RPTPZ en los procesos hipocampales tras el consumo crónico de alcohol y/o la deficiencia de tiamina aún no se ha estudiado.

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo explorar la firma de expresión génica del eje PTN-MDK-PTPRZ y otros genes candidatos relacionados con la neuroinflamación, la disfunción mitocondrial y el metabolismo de la tiamina en el hipocampo en tres modelos *in vivo* diferentes que potencialmente pueden inducir WE mediante consumo crónico de alcohol (CA), dieta con déficit de tiamina y antagonismo de la tiamina (TDD) o la combinación de CA y TDD (CA+TDD).

Material y métodos

Animales

Ratas macho Wistar (Envigo®, Barcelona, España) con un peso de 100–125 g a la llegada fueron alimentadas con

Figura 1

Diseño experimental y cronograma de los tratamientos



Nota. Un total de 42 ratas macho Wistar fueron alimentadas con pienso estándar y agua del grifo *ad libitum* durante 12 días antes de la experimentación. Después de eso, los animales fueron asignados aleatoriamente a cada grupo experimental: control [agua del grifo y pienso estándar] (C, n=14#), alcohol crónico [20% p/v durante 36 semanas] (CA, n=9), deficiencia de tiamina [dieta deficiente en tiamina y una administración diaria de piritiamina (0,25 mg/kg; i.p.) durante los últimos 12 días] (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). #Seis animales control recibieron tiamina oral (0,2 g/L) en el agua. Grupos experimentales tomados de (Moya, López-Valencia, et al., 2022). La imagen de la rata se obtuvo de BioArt Collection NIAID Visual & Medical Arts. 26/06/2025. Black Rat-Grey (BIOART-000054) NIAID BIOART Source: <https://bioart.niaid.nih.gov/bioart/54> y su color fue modificado.

comida estándar y agua del grifo disponibles *ad libitum* durante 12 días antes de la experimentación. Después de eso (alrededor del PD 40), los animales ($n = 42$) fueron asignados aleatoriamente a cada grupo experimental. Una descripción detallada del alojamiento de los animales puede encontrarse en una publicación previa (Moya et al., 2021).

Todos los procedimientos siguieron las directrices ARRI-VAL y se adhirieron a las directrices del Comité de Bienestar Animal de la Universidad Complutense de Madrid (referencia: PROEX 312-19) en cumplimiento del Real Decreto español 53/2013 y siguiendo la Directiva Europea 2010/63/EU sobre la protección de los animales utilizados para investigación y otros fines científicos.

Grupos experimentales

El diseño experimental se muestra en la Figura 1. En este estudio se emplearon 4 grupos experimentales: alcohol crónico (CA), dieta con déficit de tiamina + piritiamina (TDD), CA combinado con TDD (CA+TDD) y grupo control (C). Una descripción detallada de los grupos experimentales puede encontrarse en una publicación previa (Moya et al., 2022b).

El grupo CA fue expuesto a consumo forzado de una solución de etanol (acceso limitado a una única botella) basado en el protocolo descrito previamente (Fernandez et al., 2016). La solución de etanol se preparó a partir de etanol 96° (Iberalcohol S.L., Madrid, España) en agua del grifo. El alcohol se introdujo gradualmente; comenzando al 6% durante 5 días, seguido de otros 5 días al 9%, 5 días al 12%,

2 días al 16% y finalmente alcanzando el 20%, que se mantuvo durante las 36 semanas de duración del experimento. Las ratas CA ($n = 9$) recibieron comida estándar *ad libitum* durante todo el experimento.

En el grupo TDD ($n = 9$), los animales fueron alimentados con comida estándar y tuvieron acceso a una única botella con agua del grifo. En los últimos 12 días del experimento, el pienso fue sustituido por una dieta con déficit de tiamina (nivel residual de tiamina <0,5 ppm; Teklad Custom Diet, Envigo, Madison, WI, USA), así como una administración diaria de piritiamina hidrobromuro (inhibidor de la tiamina pirofosfocinasa) (Sigma Aldrich, Madrid, España; 0,25 mg/kg; i.p.), tal como se describió previamente (Moya et al., 2021).

En el grupo CA+TDD, los animales recibieron el mismo tratamiento de alcohol que el grupo CA y en los últimos 12 días del experimento la comida estándar fue sustituida por la dieta con déficit de tiamina más una inyección diaria de piritiamina hidrobromuro, tal como se describió para el grupo TDD ($n = 10$).

El grupo C tuvo acceso a una única botella con agua del grifo y comida estándar *ad libitum* durante toda la duración del estudio ($n = 8$). Un grupo control adicional ($n = 6$) suplementado con 0,2 g/L de tiamina en el agua durante todo el experimento (Moya et al., 2022b) se unió a este grupo dado que no se encontraron cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados (grupo C, $n = 14$).

Durante los últimos 12 días del protocolo, los grupos C y CA recibieron inyecciones diarias equivalentes de solución salina (i.p.) para reproducir las mismas condiciones de estrés en todos los animales.

Recogida de muestras de tejido

En el día 12 del protocolo TDD, al menos 1 h después de la administración del tratamiento, los animales fueron decapitados tras la inyección letal de pentobarbital sódico (320 mg/kg, i.p., Dolethal®, Vétoquinol, España). Los cerebros fueron inmediatamente aislados del cráneo, descartando las meninges y los vasos sanguíneos. Las muestras de corteza frontal y cerebelo han sido utilizadas y publicadas en (Moya et al., 2022b). También se extrajeron los hipocampos y se congelaron a -80°C hasta su análisis en este estudio.

Análisis de expresión génica

El ARN total del hipocampo (hemisferio izquierdo) se aisló usando el Total RNA Isolation Kit (Nzytech, Lisboa, Portugal) siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego, 1,5 μg de ARN fueron retrotranscritos a ADNc de cadena sencilla (First-strand cDNA Synthesis Kit, Nzytech, Lisboa, Portugal).

La PCR cuantitativa en tiempo real se realizó por duplicado para la cuantificación relativa de *Ptpnz*, *Ptn*, *Mdk*, *Tlr4*,

Ccl2, *Hmgb1*, *Mfn1*, *Mfn2* y *Tpk1* utilizando el kit SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) en un CFX Opus Real-Time System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). La expresión relativa de cada gen se calculó usando *Rpl13* y *β2m* como genes de referencia, según el método de Livak (Livak y Schmittgen, 2001). Las secuencias de los cebadores y las condiciones experimentales se resumen en la Tabla Suplementaria 1.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software IBM-SPSS v28 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) y los datos se representaron utilizando GraphPad Prism versión 8 (San Diego, CA, United States). Los datos se presentan como media \pm error estándar de la media (SEM). Tras evaluar la no normalidad de la distribución de los datos (test de Kolmogorov-Smirnov), las diferencias en la expresión génica entre los grupos experimentales se analizaron utilizando pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y se aplicaron comparaciones post-hoc usando la corrección de Bonferroni. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p menor de 0,05.

Resultados

Vía PTN-MDK-PTPRZ

En primer lugar, se analizó la expresión génica relativa de *Ptpnz* y de sus ligandos *Ptn* y *Mdk* en todos los grupos experimentales (C; CA; TDD; CA+TDD) (Figura 2A-C). Mientras que los niveles de expresión de *Ptpnz* en el grupo expuesto a alcohol crónico con o sin dieta con déficit de tiamina (CA y CA+TDD) fueron similares al grupo control, su expresión génica tendió a disminuir en el grupo TDD en comparación con los controles ($p = 0,06$, no significativo) y disminuyó significativamente en el grupo TDD en comparación con el grupo CA+TDD (Figura 2A, $p < 0,05$). Además, el grupo TDD mostró los niveles más bajos de expresión de *Ptn* entre todos los grupos experimentales, y esta disminución fue estadísticamente significativa en comparación con los grupos control y CA (Figura 2B, $p < 0,05$). La expresión génica de *Ptn* también fue menor en el grupo que recibió CA y TDD (CA+TDD) en comparación con los grupos control y CA, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística tras la corrección de Bonferroni. En contraste, no se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mdk* entre los grupos analizados (Figura 2C).

Moléculas neuroinflamatorias

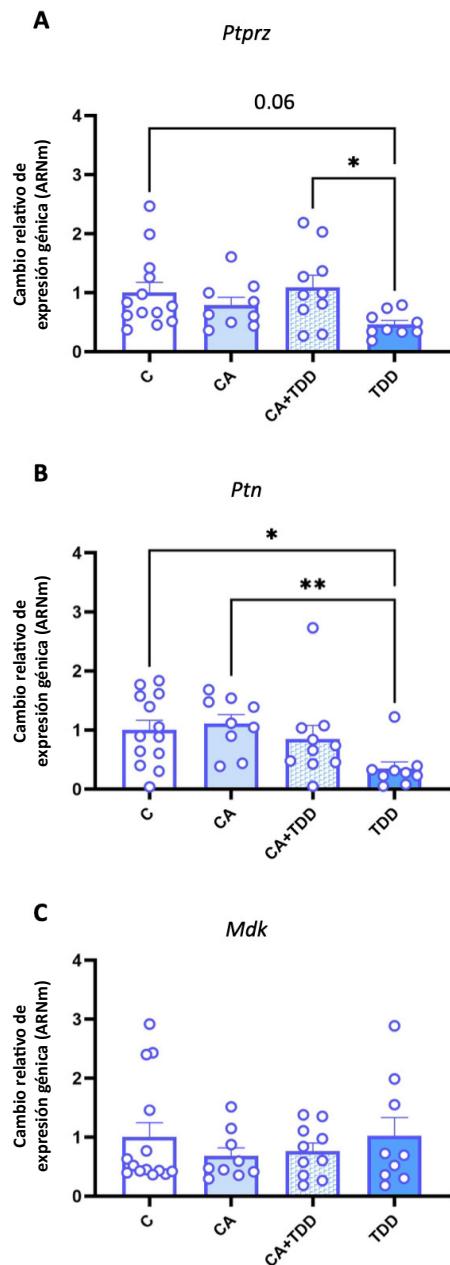
También se evaluaron los niveles de expresión de otros genes asociados con inflamación crónica (*Tlr4*, *Ccl2* y *Hmgb1*) en los tejidos de hipocampo de los diferentes grupos experimentales (Figura 3). La expresión génica de *Tlr4* fue similar en todos los grupos experimentales (Figura 3A). La ex-

presión de *Ccl2* parece ser ligeramente mayor en aquellos grupos experimentales que recibieron TDD (CA+TDD y TDD) en comparación con los grupos C y CA, a pesar de ser una tendencia no significativa (Figura 3B). En relación

con *Hmgb1*, su expresión génica relativa fue prácticamente estable en todos los grupos experimentales, independientemente del tratamiento recibido (Figura 3C).

Figura 2

Expresión génica relativa de *Ptprz* y de sus ligandos *Ptn* y *Mdk* en todos los grupos experimentales

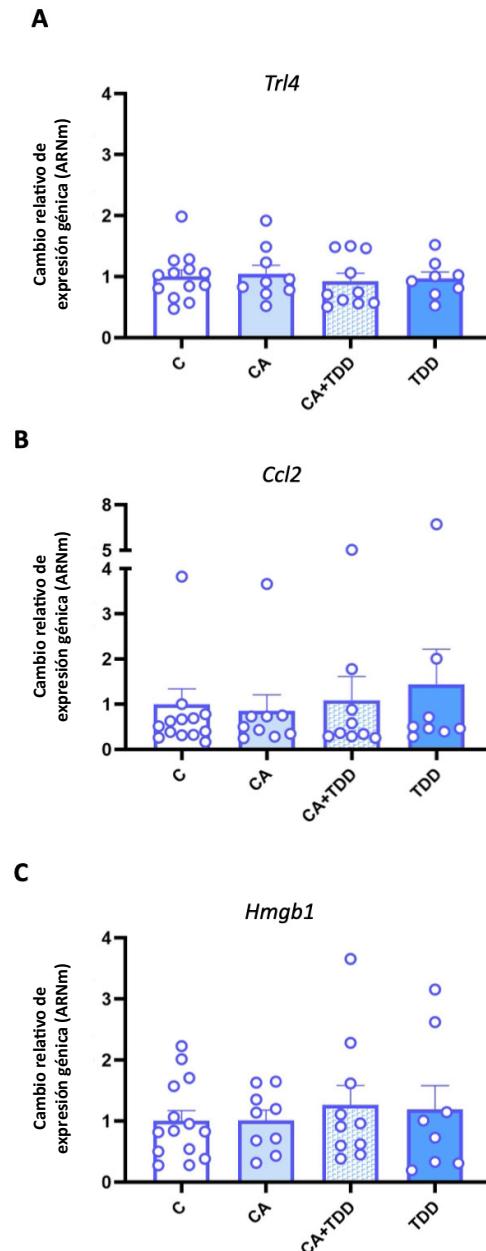


Nota. El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de los niveles de ARNm de *Ptprz* (A), *Ptn* (B) y *Mdk* (C) en el hipocampo de ratas macho Wistar.

Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). *p < 0,05 para diferencias significativas entre CA vs. TDD y **p < 0,01 para diferencias significativas entre CA vs. TDD. No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mdk* entre los grupos analizados. La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni).

Figura 3

Expresión relativa de genes proinflamatorios en los modelos in vivo de WE analizados

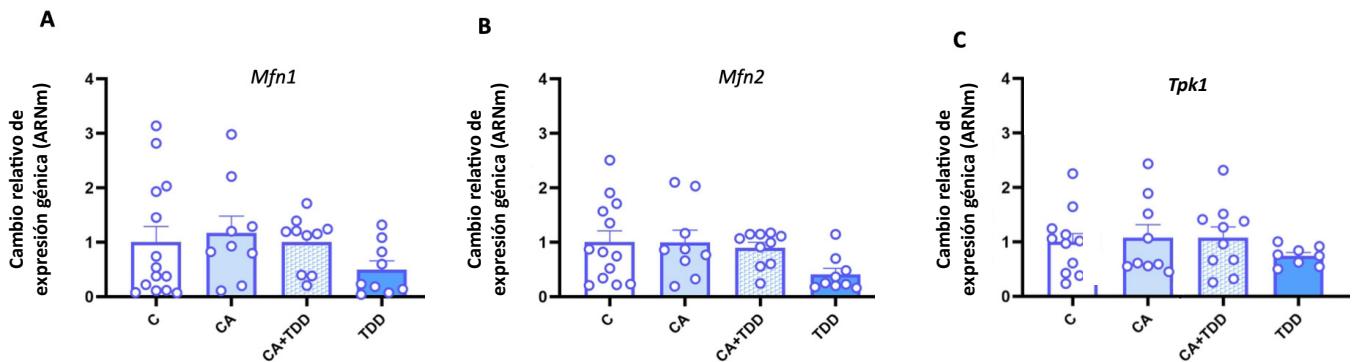


Nota. El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de los niveles de ARNm de *Trl4* (A), *Ccl2* (B) y *Hmgb1* (C) en el hipocampo.

Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni). No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Trl4*, *Ccl2* y *Hmgb1* entre los grupos analizados.

Figura 4

Niveles de expresión de genes relacionados con la homeostasis mitocondrial y el metabolismo de la tiamina



Nota. El gráfico representa los datos (media ± E.E.M.) de la cuantificación relativa de *Mfn1* (A), *Mfn2* (B) y *Tpk1* (C). Control (C, n=14), alcohol crónico (CA, n=9), dieta deficiente en tiamina y piritiamina durante 12 días (TDD, n=9) y CA combinado con TDD (CA+TDD, n=10). La significación estadística se evaluó mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) y comparaciones post-hoc (corrección de Bonferroni). No se observaron diferencias significativas en la expresión de *Mfn1*, *Mfn2* y *Tpk1* entre los grupos analizados.

Homeostasis mitocondrial y metabolismo de la tiamina

Además, se analizaron los niveles de expresión génica de *Mfn1* y *Mfn2*, proteínas cruciales implicadas en la salud y homeostasis mitocondrial (Figura 4). De manera interesante, la expresión de *Mfn1* tendió a disminuir en el grupo TDD (efecto no significativo), mientras que su expresión en el resto de los grupos experimentales fue similar (Figura 4A). Del mismo modo, los niveles más bajos de expresión de *Mfn2* se encontraron en el grupo TDD (efecto no significativo), siendo su expresión similar en el resto de los grupos experimentales (Figura 4B).

Finalmente, se midieron los niveles de expresión génica de *Tpk1*, que codifica la enzima implicada en la conversión de la tiamina a su forma activa (Figura 4C). Sus niveles de expresión no difirieron entre los grupos experimentales, aunque los niveles más bajos de *Tpk1* (no significativos) se encontraron en el grupo TDD (Figura 4C).

Discusión

La WE es una afección neurológica mayor causada por TD, siendo el AUD el principal factor de riesgo (Eva et al., 2023; Oscar-Berman y Maleki, 2019). Además, el WKS puede desarrollarse con frecuencia en aquellos pacientes con WE que no reciben terapia sustitutiva con tiamina. Sus efectos graves, incluida la amnesia y los trastornos psiquiátricos, impactan de manera significativa en la calidad de vida de estos pacientes (Kohnke y Meek, 2021; Oscar-Berman y Maleki, 2019). En este estudio, se analizó la firma de expresión génica de un conjunto de genes candidatos implicados en la neuroinflamación, la disfunción mitocondrial y el metabolismo de la tiamina en tres modelos animales que potencialmente inducen WE (CA, CA+TDD

y TDD) para caracterizar la contribución del alcohol y la deficiencia nutricional de tiamina a esta afección, específicamente en el hipocampo. Nuestros hallazgos indican una expresión génica diferencial del eje PTN-MDK-PTPRZ en el grupo que recibió la dieta con déficit de tiamina sin contribución significativa de los grupos con alcohol (CA y CA+TDD).

PTPRZ es el receptor principal de PTN y MDK en el SNC, donde se encuentra ampliamente expresado. PTN y MDK son dos factores neurotróficos implicados en la regulación de los mecanismos neuroinflamatorios subyacentes a distintas afecciones neurológicas (Herradon et al., 2019). *Ptprz* se encontró regulado a la baja en el hipocampo del grupo TDD; sin embargo, esta disminución no se observó en los grupos experimentales expuestos a alcohol crónico (36 semanas) sin o con dieta con déficit de tiamina (CA y CA+TDD, respectivamente). En este sentido, resultados previos de nuestro grupo mostraron ausencia de cambios en la expresión de *Ptprz* en la CPF del ratón tras una exposición aguda a etanol (Rodríguez-Zapata et al., 2023). Por lo tanto, nuestros datos sugieren que la regulación a la baja de *Ptprz* podría ser específica de la dieta con déficit de tiamina y no verse afectada por la exposición crónica al alcohol, como se observa en los grupos CA y CA+TDD. No obstante, se necesitan más estudios para confirmar que la expresión de *Ptprz* no se modifica por el consumo crónico de alcohol. De manera interesante, los ratones knockout para *Ptprz* muestran alteraciones en el comportamiento social y agresividad sugestivas de algunos síntomas positivos de la esquizofrenia (también presentes en pacientes con WKS), así como niveles elevados de dopamina en la CPF, amígdala e hipocampo (Cressant et al., 2017).

De forma llamativa, la dieta con déficit de tiamina indujo una disminución significativa en la expresión de *Ptn*,

mientras que no se observaron diferencias significativas en *Mdk* entre los grupos analizados. Esto es interesante porque PTN y MDK son los únicos miembros de esta familia de citoquinas, y se solapan ampliamente en estructura y función (Herradón et al., 2005; Herradón y Pérez-García, 2014). Sin embargo, los datos presentados aquí sugieren un papel más prominente de PTN en situaciones de deficiencia de tiamina. Además, PTN y MDK se han encontrado regulados al alza en diversas patologías con un componente neuroinflamatorio (Herradón et al., 2019). En relación con el consumo de alcohol, la expresión de *Ptn* se reguló al alza en la CPF del ratón tras una administración aguda de etanol (Vicente-Rodríguez et al., 2014); sin embargo, tras un modelo de acceso intermitente al etanol durante 4 semanas en la adolescencia, no observamos cambios significativos en la expresión de *Ptn* en el hipocampo del ratón (Galán-Llario et al., 2024). Además, PTN parece desempeñar un papel protector frente a la pérdida neuronal dopaminérgica en diferentes contextos patológicos (Gombash et al., 2012; Gramage et al., 2010). En respuesta a una agresión tóxica, como administraciones de anfetamina, los ratones knockout para *Ptn* mostraron una intensificación de la neurotoxicidad dopaminérgica en la vía nigroestriatal (Gramage et al., 2010), mientras que la sobreexpresión de *Ptn* mostró efectos neurotróficos protectores en modelos de roedores de la enfermedad de Parkinson (Gombash et al., 2012). Tomando conjuntamente la regulación a la baja de *Ptn* y *Ptpz* en ratas con dieta con déficit de tiamina, resulta tentador hipotetizar que los déficits en esta vía neurotrófica podrían estar implicados en la gravedad del daño cerebral causado por la dieta con déficit de tiamina.

La neuroinflamación es uno de los principales mecanismos patogénicos subyacentes al daño cerebral en WE (Cassiano et al., 2022; Eva et al., 2023; Toledo Nunes et al., 2019; Zahr et al., 2014; Zhao et al., 2014). Por lo tanto, se evaluó el patrón de expresión génica de *Tr4*, *Ccl2* y *Hmgb1* en los modelos animales de consumo de CA y TD analizados en este estudio. Diferentes estudios avalan el papel de la respuesta inmunitaria TLR4 en la neuroinflamación observada en WE, particularmente en las áreas corticales y cerebelosas (Moya et al., 2022a; Moya et al., 2021). Por ejemplo, tanto los niveles proteicos de TLR4 como de HMGB1 se encontraron regulados al alza en la CPF tras 12 días de TDD, mientras que las alteraciones de esta vía en el cerebro fueron más evidentes tras 16 días de TDD (Moya et al., 2021). En el presente estudio, no encontramos alteraciones significativas en la expresión de estas moléculas proinflamatorias en el hipocampo tras 12 días de TDD, lo que sugiere que el pico de neuroinflamación en esta estructura podría estar ocurriendo en un momento diferente, de acuerdo con las distintas vulnerabilidades regionales del cerebro a la deficiencia de tiamina a lo largo del tiempo (Moya et al., 2021). No obstante, el análisis transcriptómico de un modelo *ex vivo* de TD

(cultivo organotípico de rodaja hipocampal) no mostró alteraciones en *Tr4*, *Ccl2* o *Hmgb1* entre 90 genes diferencialmente expresados, incluyendo las vías de señalización TNF y FoxO (Cassiano et al., 2022), en concordancia con los datos del presente estudio.

Además, se determinó la expresión génica de *Mfn1* y *Mfn2*. La regulación de la dinámica mitocondrial es crucial para la homeostasis del calcio y la energía en las neuronas (McCoy y Cookson, 2012; van Horssen et al., 2019), siendo MFN1 y MFN2 esenciales para la fusión mitocondrial (van Horssen et al., 2019; Wai y Langer, 2016). Tanto *Mfn1* como *Mfn2* tendieron a disminuir en el grupo TDD (no significativo), mientras que su expresión en el resto de los grupos experimentales fue muy similar al grupo control. Curiosamente, se ha encontrado que los niveles de *Mfn2* disminuyen en el hipocampo de ratones sometidos al procedimiento de drinking in the dark (Mira et al., 2020). Además, los ratones knockout inducibles para *Mfn2* mostraron neurodegeneración mediada por estrés oxidativo y neuroinflamación en hipocampo y corteza (Han et al., 2020). Por tanto, se necesitan más estudios para confirmar una posible disminución en la expresión de *Mfn2* en TD y su posible valor como marcador temprano de disfunción mitocondrial.

Finalmente, analizamos *Tpk1*, una proteína crucial en el metabolismo de la tiamina que codifica la enzima implicada en la conversión de la tiamina a su forma activa (Jhala y Hazell, 2011; Zhao et al., 2014). Los bajos niveles de expresión de *Tpk1* en el cerebro, en comparación con otros tejidos, parecen contribuir a la vulnerabilidad cerebral a la deficiencia de tiamina (Xia et al., 2024). En este sentido, no encontramos diferencias en los niveles de expresión de *Tpk1*, lo que sugiere que el metabolismo de la tiamina en el hipocampo puede no ser crucial en estos modelos de WE.

Tomando todos los resultados en conjunto, este estudio muestra un papel prominente del modelo TDD frente al modelo de consumo crónico de alcohol, ya que cualquier alteración encontrada en este estudio estuvo presente en el grupo TDD. De manera similar, otros autores observaron un papel fundamental de la TD en la expresión de marcadores neuroinflamatorios en comparación con modelos de alcohol crónico, donde los marcadores inflamatorios mostraron solo modificaciones menores (Toledo Nunes et al., 2019). De forma similar, en cuanto a parámetros de daño y correlatos conductuales como la desinhibición, observamos previamente que los cambios en el grupo CA+TDD dependían en gran medida del TDD (Moya et al., 2022b), confirmando el mayor potencial de daño de este modelo.

En cuanto a los correlatos conductuales, los animales del grupo TDD no mostraron una afectación significativa de la memoria, aunque pudo observarse una tendencia en el test de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), ya que algunos animales TDD mostraron mayores latencias para explorar el objeto novedoso y una ligera disminución

en el índice de discriminación (Moya et al., 2022b). En el presente estudio, también examinamos la posible correlación entre dos parámetros del test NOR (latencia al objeto novedoso e índice de discriminación). Nuestro análisis no encontró una asociación significativa entre los niveles de expresión de *Ptn* y *Ptpz* y estos resultados del test NOR (datos no mostrados). Por tanto, las disminuciones significativas en la expresión de *Ptn* y *Ptpz* observadas en el hipocampo del grupo TDD podrían estar relacionadas con un paso inicial del daño hipocampal, en el cual las funciones de memoria y motoras no están significativamente comprometidas.

Somos conscientes de algunas limitaciones del estudio, como la inclusión de un grupo control combinado (con y sin suplementación de tiamina) y los cambios modestos observados en la expresión de ciertos genes candidatos (*Ptn* y *Ptpz*) en el grupo TDD. Además, en los animales del presente estudio observamos una tendencia hacia la disminución de los niveles plasmáticos de tiamina en todos los animales CA (Moya et al., 2022b) aunque no se analizó la forma activa (TDP). En este sentido, otros autores han informado disminuciones significativas en los niveles de difosfato de tiamina (TDP), la forma activa de la tiamina, en glóbulos rojos de animales sometidos a protocolos similares de CA y TDD, como medida objetiva de deficiencia de tiamina (Toledo Nunes et al., 2019). Finalmente, solo incluimos machos en este estudio, lo cual es una limitación importante. Hasta donde sabemos, las hembras no se han estudiado con estos protocolos animales. Considerando la brecha actual en investigación biomédica respecto a los efectos en hembras y dado el creciente cuerpo de conocimiento sobre las diferencias sexuales en el impacto biológico del CA en parámetros cerebrales, incluida la neuroinflamación, es urgente completar estas investigaciones utilizando hembras para análisis comparativos. A pesar de estas limitaciones, estos hallazgos preliminares sobre el eje PTN/PTPRZ podrían proporcionar datos novedosos sobre los pasos iniciales del daño cerebral causado por una dieta con déficit de tiamina.

Los datos sugieren que un déficit general de la vía neurotrófica PTN/PTPRZ, junto con posibles alteraciones en la dinámica mitocondrial, podrían ser eventos que preceden la sintomatología grave de una etapa avanzada en WE. Se necesitan más experimentos para confirmar esta hipótesis, lo que podría conducir al desarrollo de nuevas terapias para prevenir afectaciones neurológicas y la progresión de la enfermedad. En este sentido, se ha desarrollado recientemente una pequeña molécula permeable a la BHE, llamada MY10, que imita muchas de las acciones de PTN en el SNC, como la reducción del consumo de alcohol en diferentes modelos de roedores (Calleja-Conde et al., 2020; Fernández-Calle et al., 2018; Galán-Llario, Rodríguez-Zapata, Fontán-Baselga, et al., 2023).

Conclusión

Nuestros hallazgos indican un perfil diferencial de expresión génica del eje PTN-MDK-PTPRZ en el hipocampo de ratas que recibieron una dieta con déficit de tiamina y piritiamina durante 12 días, pero no en el resto de los modelos de WE analizados (CA y CA+TDD). Los datos sugieren que los déficits de la vía neurotrófica PTN/PTPRZ pueden preceder a las etapas más graves y avanzadas de la WE. Estudios adicionales que diluciden los roles de PTN y su receptor en WE podrían abrir nuevas vías terapéuticas para prevenir el desarrollo y progresión del WKS.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad de España (subvenciones 2023I018 a G.H. y 2024I044 a E.G.), por el Ministerio de Ciencia e Innovación (España), cofinanciado por FEDER (Unión Europea) (subvención PID2021-127256OB-I00 a L.O.) y por ISCIII Redes de Investigación Cooperativa Orientadas a Resultados en Salud (RICORS), Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd; subvención RD24/0003/0011 a G.H. y RD24/0003/0010 a L.O.).

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias

- Abdou, E. y Hazell, A. S. (2015). Thiamine Deficiency: An Update of Pathophysiologic Mechanisms and Future Therapeutic Considerations. *Neurochemical Research*, 40(2), 353–361. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1430-z>
- Arts, N., Walvoort, S. y Kessels, R. (2017). Korsakoff's syndrome: A critical review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment, Volume 13*, 2875–2890. <https://doi.org/10.2147/NDT.S130078>
- Calleja-Conde, J., Fernández-Calle, R., Zapico, J. M., Ramos, A., de Pascual-Teresa, B., Bühler, K., Echaverry-Alzate, V., Giné, E., Rodríguez de Fonseca, F., López-Moreno, J. A. y Herradón, G. (2020). Inhibition of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase β/ζ Reduces Alcohol Intake in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 44(5), 1037–1045. <https://doi.org/10.1111/acer.14321>
- Cañeque-Rufo, H., Fontán-Baselga, T., Galán-Llario, M., Zuccaro, A., Sánchez-Alonso, M. G., Gramage, E., Ramos-Álvarez, M. del P. y Herradón, G. (2025). Pleiotrophin deletion prevents high-fat diet-induced cognitive impairment, glial responses, and alterations of the perineuronal nets in the hippocampus. *Neurobio-*

- logy of Disease*, 205, 106776. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2024.106776>
- Cassiano, L. M. G., Oliveira, M. S., Pioline, J., Salim, A. C. M. y Coimbra, R. S. (2022). Neuroinflammation regulates the balance between hippocampal neuron death and neurogenesis in an ex vivo model of thiamine deficiency. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1), 272. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02624-6>
- Chew, L., Takanohashi, A. y Bell, M. (2006). Microglia and inflammation: Impact on developmental brain injuries. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 12(2), 105–112. <https://doi.org/10.1002/mrdd.20102>
- Cressant, A., Dubreuil, V., Kong, J., Kranz, T. M., Lazarini, F., Launay, J.-M., Callebert, J., Sap, J., Malaspina, D., Granon, S. y Harroch, S. (2017). Loss-of-function of PTPR γ and ζ, observed in sporadic schizophrenia, causes brain region-specific deregulation of monoamine levels and altered behavior in mice. *Psychopharmacology*, 234(4), 575–587. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4490-8>
- del Campo, M., Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Martín Martínez, S., Gramage, E., Zapico, J. M., Haro, M. y Herradón, G. (2021). Role of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase β/ζ in Neuron–Microglia Communication in a Cellular Model of Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6646. <https://doi.org/10.3390/ijms22136646>
- Eva, L., Brehar, F.-M., Florian, I.-A., Covache-Busuioc, R.-A., Costin, H. P., Dumitrascu, D.-I., Bratu, B.-G., Glavan, L.-A. y Ciurea, A. V. (2023). Neuropsychiatric and Neuropsychological Aspects of Alcohol-Related Cognitive Disorders: An In-Depth Review of Wernicke's Encephalopathy and Korsakoff's Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, 12(18), 6101. <https://doi.org/10.3390/jcm12186101>
- Fernandez, G. M., Stewart, W. N. y Savage, L. M. (2016). Chronic Drinking During Adolescence Predisposes the Adult Rat for Continued Heavy Drinking: Neurotrophin and Behavioral Adaptation after Long-Term, Continuous Ethanol Exposure. *PLOS ONE*, 11(3), e0149987. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149987>
- Fernández-Calle, R., Galán-Llario, M., Gramage, E., Zapatiería, B., Vicente-Rodríguez, M., Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Ramos, A., Ramos-Álvarez, M. P., Uribarri, M., Ferrer-Alcón, M. y Herradón, G. (2020). Role of RPTPβ/ζ in neuroinflammation and microglia-neuron communication. *Scientific Reports*, 10(1), 20259. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76415-5>
- Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Pastor, M., Gramage, E., Di Geronimo, B., Zapico, J. M., Coderch, C., Pérez-García, C., Lasek, A. W., de Pascual-Teresa, B., Ramos, A. y Herradón, G. (2018). Pharmacological inhibition of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase β/ζ (PTPRZ1) modulates behavioral responses to ethanol. *Neuropharmacology*, 137, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.027>
- Flatscher-Bader, T. y Wilce, P. A. (2008). Impact of Alcohol Abuse on Protein Expression of Midkine and Excitatory Amino Acid Transporter 1 in the Human Prefrontal Cortex. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(10), 1849–1858. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00754.x>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Fontán-Baselga, T., Cañeque-Rufo, H., García-Guerra, A., Fernández, B., Gramage, E. y Herradón, G. (2024). Pleiotrophin Overexpression Reduces Adolescent Ethanol Consumption and Modulates Ethanol-Induced Glial Responses and Changes in the Perineuronal Nets in the Mouse Hippocampus. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 30(12). <https://doi.org/10.1111/cns.70159>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Fontán-Baselga, T., Gramage, E., Vicente-Rodríguez, M., Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Lasek, A. W. y Herradón, G. (2023a). Inhibition of RPTPβ/ζ reduces chronic ethanol intake in adolescent mice and modulates ethanol effects on hippocampal neurogenesis and glial responses in a sex-dependent manner. *Neuropharmacology*, 227, 109438. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109438>
- Galán-Llario, M., Rodríguez-Zapata, M., Gramage, E., Vicente-Rodríguez, M., Fontán-Baselga, T., Ovejero-Benito, M.C., Pérez-García C, Carrasco J., Moreno-Herradón M, Sevillano J., Ramos-Álvarez P, Zapico, J. M., de Pascual-Teresa, B., Ramos A. y Herradón, G. (2023b). Receptor protein tyrosine phosphatase β/ζ regulates loss of neurogenesis in the mouse hippocampus following adolescent acute ethanol exposure. *Neurotoxicology*, 94:98-107. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.11.008>
- Gombash, S. E., Lipton, J. W., Collier, T. J., Madhavan, L., Steece-Collier, K., Cole-Strauss, A., Terpstra, B. T., Spieles-Engemann, A. L., Daley, B. F., Wohlgenant, S. L., Thompson, V. B., Manfredsson, F. P., Mandel, R. J. y Sortwell, C. E. (2012). Striatal Pleiotrophin Overexpression Provides Functional and Morphological Neuroprotection in the 6-Hydroxydopamine Model. *Molecular Therapy*, 20(3), 544–554. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.216>
- Gomez-Nicola, D. y Perry, V. H. (2015). Microglial Dynamics and Role in the Healthy and Diseased Brain. *The Neuroscientist*, 21(2), 169–184. <https://doi.org/10.1177/1073858414530512>
- González-Castillo, C., Ortúñoz-Sahagún, D., Guzmán-Brambila, C., Pallàs, M. y Rojas-Mayorquín, A. E. (2015). Pleiotrophin as a central nervous system neuromodulator, evidences from the hippocampus. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00443>

- Gramage, E., Rossi, L., Granado, N., Moratalla, R. y Herradón, G. (2010). Genetic inactivation of Pleiotrophin triggers amphetamine-induced cell loss in the substantia nigra and enhances amphetamine neurotoxicity in the striatum. *Neuroscience*, 170(1), 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.06.078>
- Hammoud, N. y Jimenez-Shahed, J. (2019). Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clinics in Liver Disease*, 23(1), 141–155. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.09.010>
- Han, S., Nandy, P., Austria, Q., Siedlak, S. L., Torres, S., Fujioka, H., Wang, W. y Zhu, X. (2020). Mfn2 Ablation in the Adult Mouse Hippocampus and Cortex Causes Neuronal Death. *Cells*, 9(1), 116. <https://doi.org/10.3390/cells9010116>
- Herradon, G., Ezquerra, L., Nguyen, T., Silos-Santiago, I. y Dueel, T. F. (2005). Midkine regulates pleiotrophin organ-specific gene expression: Evidence for transcriptional regulation and functional redundancy within the pleiotrophin/midkine developmental gene family. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 333(3), 714–721. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.160>
- Herradón, G. y Pérez-García, C. (2014). Targeting midkine and pleiotrophin signalling pathways in addiction and neurodegenerative disorders: Recent progress and perspectives. *British Journal of Pharmacology*, 171(4), 837–848. <https://doi.org/10.1111/bph.12312>
- Herradon, G., Ramos-Alvarez, M. P. y Gramage, E. (2019). Connecting Metainflammation and Neuroinflammation Through the PTN-MK-RPTP β/ζ Axis: Relevance in Therapeutic Development. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00377>
- Jhala, S. S. y Hazell, A. S. (2011). Modeling neurodegenerative disease pathophysiology in thiamine deficiency: Consequences of impaired oxidative metabolism. *Neurochemistry International*, 58(3), 248–260. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.11.019>
- Jung, Y. J., Tweedie, D., Scerba, M. T. y Greig, N. H. (2019). Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00313>
- Jung, Y.-C., Chanraud, S. y Sullivan, E. V. (2012). Neuroimaging of Wernicke's Encephalopathy and Korsakoff's Syndrome. *Neuropsychology Review*, 22(2), 170–180. <https://doi.org/10.1007/s11065-012-9203-4>
- Kielian, T. (2016). Multifaceted roles of neuroinflammation: The need to consider both sides of the coin. *Journal of Neurochemistry*, 136(S1), 5–9. <https://doi.org/10.1111/jnc.13530>
- Kohnke, S. y Meek, C. L. (2021). Don't seek, don't find: The diagnostic challenge of Wernicke's encephalopathy. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 58(1), 38–46. <https://doi.org/10.1177/0004563220939604>
- Lehnardt, S. (2010). Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: The role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia*, 58(3), 253–263. <https://doi.org/10.1002/glia.20928>
- Li, S. y Xing, C. (2025). Wernicke encephalopathy: A mini review of the clinical spectrum, atypical manifestations, and diagnostic challenges. *Frontiers in Neurology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fneur.2025.1566366>
- Livak, K. J. y Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Maeda, N., Ichihara-Tanaka, K., Kimura, T., Kadomatsu, K., Muramatsu, T. y Noda, M. (1999). A Receptor-like Protein-tyrosine Phosphatase PTP $\zeta/RPTP\beta$ Binds a Heparin-binding Growth Factor Midkine. *Journal of Biological Chemistry*, 274(18), 12474–12479. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.18.12474>
- Martin, P. R., Singleton, C. K. y Hiller-Sturmöhfel, S. (2003). The role of thiamine deficiency in alcoholic brain disease. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27(2), 134–142.
- McCoy, M. K. y Cookson, M. R. (2012). Mitochondrial quality control and dynamics in Parkinson's disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(9), 869–882. <https://doi.org/10.1089/ARS.2011.4019>
- Mira, R. G., Lira, M., Quintanilla, R. A. y Cerpa, W. (2020). Alcohol consumption during adolescence alters the hippocampal response to traumatic brain injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 528(3), 514–519. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.160>
- Moya, M., Escudero, B., Gómez-Blázquez, E., Rebollo-Poves, A. B., López-Gallardo, M., Guerrero, C., Marco, E. M. y Orio, L. (2022a). Upregulation of TLR4/MyD88 pathway in alcohol-induced Wernicke's encephalopathy: Findings in preclinical models and in a postmortem human case. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.866574>
- Moya, M., López-Valencia, L., García-Bueno, B. y Orio, L. (2022b). Disinhibition-Like Behavior Correlates with Frontal Cortex Damage in an Animal Model of Chronic Alcohol Consumption and Thiamine Deficiency. *Biomedicines*, 10(2), 260. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020260>
- Moya, M., San Felipe, D., Ballesta, A., Alén, F., Rodríguez de Fonseca, F., García-Bueno, B., Marco, E. M. y Orio, L. (2021). Cerebellar and cortical TLR4 activation and behavioral impairments in Wernicke-Korsakoff Syndrome: Pharmacological effects of oleoylethanolamide. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 108, 110190. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110190>

- Oscar-Berman, M. y Maleki, N. (2019). Alcohol Dementia, Wernicke's Encephalopathy, and Korsakoff's Syndrome. En M. L. Alosco & R. A. Stern (Eds.), *The Oxford Handbook of Adult Cognitive Disorders* (pp. 742–758). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190664121.013.33>
- Rodríguez-Zapata, M., Galán-Llario, M., Cañequé-Rufo, H., Sevillano, J., Sánchez-Alonso, M. G., Zapico, J. M., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Pascual-Teresa, B. de, Ramos-Álvarez, M. del P., Herradón, G., Pérez-García, C. y Gramage, E. (2023). Implication of the PTN/RPTP β/ζ Signaling Pathway in Acute Ethanol Neuroinflammation in Both Sexes: A Comparative Study with LPS. *Biomedicines*, 11(5), 1318. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051318>
- Rodríguez-Zapata, M., López-Rodríguez, R., Ramos-Álvarez, M. del P., Herradón, G., Pérez-García, C. y Gramage, E. (2024). Pleiotrophin modulates acute and long-term LPS-induced neuroinflammatory responses and hippocampal neurogenesis. *Toxicology*, 509, 153947. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153947>
- Ross-Munro, E., Kwa, F., Kreiner, J., Khore, M., Miller, S. L., Tolcos, M., Fleiss, B. y Walker, D. W. (2020). Midkine: The Who, What, Where, and When of a Promising Neurotrophic Therapy for Perinatal Brain Injury. *Frontiers in Neurology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.568814>
- Sahu, P., Verma, H. K. y Bhaskar, L. (2025). Alcohol and alcoholism associated neurological disorders: Current updates in a global perspective and recent recommendations. *World Journal of Experimental Medicine*, 15(1). <https://doi.org/10.5493/wjem.v15.i1.100402>
- Toledo Nunes, P., Vedder, L. C., Deak, T. y Savage, L. M. (2019). A Pivotal Role for Thiamine Deficiency in the Expression of Neuroinflammation Markers in Models of Alcohol-Related Brain Damage. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 43(3), 425–438. <https://doi.org/10.1111/acer.13946>
- van Horssen, J., van Schaik, P. y Witte, M. (2019). Inflammation and mitochondrial dysfunction: A vicious circle in neurodegenerative disorders? *Neuroscience Letters*, 710. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2017.06.050>
- Vicente-Rodríguez, M., Pérez-García, C., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Sánchez-Alonso, M. G., Ramos, M. P. y Herradón, G. (2014). Pleiotrophin differentially regulates the rewarding and sedative effects of ethanol. *Journal of Neurochemistry*, 131(5), 688–695. <https://doi.org/10.1111/jnc.12841>
- Vicente-Rodríguez, M., Rojo Gonzalez, L., Gramage, E., Fernández-Calle, R., Chen, Y., Pérez-García, C., Ferrer-Alcón, M., Uribarri, M., Bailey, A. y Herradón, G. (2016). Pleiotrophin overexpression regulates amphetamine-induced reward and striatal dopaminergic denervation without changing the expression of dopamine D1 and D2 receptors: Implications for neuroinflammation. *European Neuropsychopharmacology*, 26(11), 1794–1805. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.09.002>
- Wai, T. y Langer, T. (2016). Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 27(2), 105–117. <https://doi.org/10.1016/J.TEM.2015.12.001>
- Xia, Y., Qian, T., Fei, G., Cheng, X., Zhao, L., Sang, S. y Zhong, C. (2024). Low expression of thiamine pyrophosphokinase-1 contributes to brain susceptibility to thiamine deficiency. *NeuroReport*, 35(15), 1000–1009. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000002094>
- Zahr, N. M., Alt, C., Mayer, D., Rohlfing, T., Manning-Bog, A., Luong, R., Sullivan, E. V. y Pfefferbaum, A. (2014). Associations between in vivo neuroimaging and postmortem brain cytokine markers in a rodent model of Wernicke's encephalopathy. *Experimental Neurology*, 261, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.06.015>
- Zhao, Y., Wu, Y., Hu, H., Cai, J., Ning, M., Ni, X. y Zhong, C. (2014). Downregulation of transketolase activity is related to inhibition of hippocampal progenitor cell proliferation induced by thiamine deficiency. *BioMed Research International*, 2014, 572915. <https://doi.org/10.1155/2014/572915>

Información suplementaria

Tabla suplementaria 1

Lista de cebadores utilizados para el análisis de expresión génica mediante PCR cuantitativa en tiempo real

Gen	Cebador directo/inverso	T _a (°C)
<i>Ptn</i>	5'-TTGGGGAGAATGTGACCTCAATAC-3' 5'-TCTCCTGTTCTGCCTCCTT-3'	60
<i>Ptpz</i>	5'-ACCACCAACACCCATCTTCC-3' 5'-CAGCTCTGCACTCCCTGGTAA-3'	60
<i>Mdk</i>	5'-CCCGTGAGCGAGATGCAG-3' 5'-CAGGTCCACTCCGAACACTC-3'	60
<i>Hmgb1</i>	5'-TACAGAGCGGAGAGAGTGAGG-3' 5'-GACATTTCGCTCTGGCTT-3'	60
<i>Mfn1</i>	5'-CTGGGACGGAATGAGTGACC-3' 5'-CATGTGAGGGGCCAATCTT-3'	60
<i>Mfn2</i>	5'-AGAGGCGATTGAGGAGTG-3' 5'-CGCTCTCCCGCATTCAAG-3'	60
<i>Tpk1</i>	5'-CCCGCTATGGAGCATGTCTT-3' 5'-GCTTTCTCAAAGATGCCGA-3'	60
<i>Ccl2</i>	5'-AGATCTGTGCTGACCCAAT-3' 5'-GGTGTGAAGTCCTAGGGT-3'	60
<i>Tlr4</i>	5'-GATCTGAGCTCAACCCCCCTG-3' 5'-GTACCAAGGTTGAGAGCTGGT-3'	60
<i>Rpl13</i>	5'-GAGGCCAAAACCGTCACCT-3' 5'-GTTAGCTGCGTGGCAATT-3'	60
<i>β2m</i>	5'-GAGCCCAAACCGTCACCT-3' 5'-GAAGATGGTGTGCTATTGC-3'	60

Nota. *Ptn*, Pleiotrofina; *Ptpz*, Receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo Z1; *Mdk*, Midquina; *Hmgb1*, Caja de alta movilidad grupo 1; *Mfn1*, Mitofusina 1; *Mfn2*, Mitofusina 2; *Tpk1*, Tiamina pirofosfocinasa 1; *Ccl2*, Ligando de quimiocina con motivo C-C 2; *Tlr4*, Receptor tipo Toll 4; *Rpl13*, Proteína ribosomal L13; y *β2m*, Beta-2 microglobulina. Ta, temperatura de alineamiento.

Los cebadores fueron diseñados utilizando la herramienta en línea Primer-BLAST, NIH (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>).



ORIGINAL

Pérdida del control de la ingesta alimentaria y flexibilidad cognitiva: Participación de la microbiota intestinal

*Loss of eating control and cognitive flexibility:
Involvement of gut microbiota*

SOLVEIGA SAMULĒNAITĖ*, **; AURELIJUS BUROKAS**, JOSÉ MANUEL FERNÁNDEZ-REAL***, ****, JORDI MAYNERIS-PERXACHS***, ****, ELENA MARTÍN-GARCÍA*, *****; RAFAEL MALDONADO*, *****.

* Laboratorio de Neurofarmacología, Departamento de Medicina y Ciencias de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España.

** Departamento de Modelos Biológicos, Instituto de Bioquímica, Centro de Ciencias de la Vida, Universidad de Vilna, Vilna, Lituania.

*** Departamento de Diabetes, Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Dr. Josep Trueta, Girona, España.

**** Grupo de Nutrición, Eumetabolismo y Salud, Instituto de Investigación Biomédica de Girona (IDIBGI), Girona, España.

***** Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias de la Salud, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès (08193), Barcelona, España.

***** Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas (IMIM), Barcelona, España.

***** INSERM U1329 – Neuropsiquiatría Traslacional, Centro de Investigación en Biomedicina de Estrasburgo (CRBS), Estrasburgo, Francia.

Resumen

La pérdida del control de la ingesta alimentaria es un factor crucial en el desarrollo de la obesidad. Una alteración cognitiva importante asociada con la pérdida del control de la ingesta alimentaria y la obesidad es el deterioro de la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio. Un número cada vez mayor de estudios confirman que la microbiota intestinal contribuye significativamente a la pérdida del control de la ingesta alimentaria, la obesidad y la función cognitiva. En base a estos datos, hemos investigado si la transferencia de microbiota intestinal de humanos con obesidad/normopeso y flexibilidad cognitiva deteriorada/no deteriorada podría afectar sustancialmente esta respuesta conductual en ratones expuestos a una dieta obesogénica frente a una dieta estándar. Los ratones fueron tratados previamente con un cóctel de antibióticos y luego recibieron un trasplante de microbiota intestinal de humanos. Posteriormente, se realizaron diferentes test de comportamiento para evaluar la flexibilidad cognitiva como una medida del control inhibitorio. El tratamiento con antibióticos deterioró significativamente la memoria a corto plazo en ratones, como se ha informado previamente. Es importante destacar que los ratones que recibieron microbiota de sujetos con alta y baja flexibilidad cognitiva modificaron su rendimiento de memoria a corto y largo plazo en función de la exposición a la dieta. En resumen, este estudio muestra que la microbiota intestinal es un factor que contribuye de manera importante a la flexibilidad cognitiva, lo que puede abrir nuevas estrategias terapéuticas para combatir la pérdida de control de la ingesta alimentaria y las comorbilidades metabólicas asociadas.

Palabras clave: Adicción a la comida, obesidad, microbiota intestinal, deterioro cognitivo, trasplante de microbiota fecal

Abstract

Loss of eating control is a crucial factor in developing obesity, which has become a global health concern, causing important cardiovascular, metabolic, emotional, and cognitive co-morbidities. A major cognitive alteration associated with loss of eating control and obesity is the impairment of cognitive flexibility and inhibitory control. An increasing number of studies confirm that gut microbiota is a significant contributor to loss of eating control, obesity, and cognitive function. Therefore, we have investigated whether gut microbiota transfer from humans with impaired/not impaired cognitive flexibility could substantially affect this behavioral response in mice in the context of obesogenic versus standard diet. Mice were pretreated with an antibiotic cocktail and later received a gut microbiota transplant from human subjects. The transferred microbiota was maintained in mice for seven weeks. Afterward, behavioral tests were performed to evaluate different cognitive responses, locomotor activity, anxiety-like, and depression-like behaviors. Antibiotic treatment significantly impaired short-term memory in mice, as previously reported. Furthermore, mice that received microbiota from high and low cognitive flexibility subjects modified their short-term and long-term memory performance depending on the diet exposure. Slight changes were observed in the locomotor activity, primarily in the high-fat diet-fed antibiotic-treated mice, and no significant alterations were observed in anxiety-like or depressive-like behaviors. In summary, this study shows that gut microbiota is a major contributor to cognitive flexibility, which may open novel therapeutic strategies for combating loss of eating control and related metabolic co-morbidities.

Keywords: Loss of eating control, obesity, food addiction, gut microbiota, cognitive flexibility, fecal microbiota transplant

■ Recibido: Marzo 2025; Aceptado: Julio 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Prof. Rafael Maldonado, Laboratorio de Neurofarmacología-Neurophar, Universitat Pompeu Fabra, C/Dr Aiguader 88, Barcelona 08003, España.
E-mail: rafael.maldonado@upf.edu

La pérdida de control de la ingesta es una alteración conductual estrechamente relacionada con el desarrollo de sobrepeso y obesidad, trastornos metabólicos que han alcanzado niveles epidémicos, con más de 890 millones de personas diagnosticadas con obesidad (WHO. *Obesity and Overweight*, 2022). El sobrepeso y la obesidad son problemas de salud graves asociados a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 y alteraciones cognitivas (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a; Kloock et al., 2023). Los tratamientos actuales relacionados con la obesidad tienen una eficacia limitada, y entre el 35 y el 50% de las personas con obesidad recaen durante el primer año, principalmente debido a la pérdida de control de la ingesta, que varios autores incluso han definido como un comportamiento de adicción a la comida con similitudes estrechas a las alteraciones conductuales que definen los trastornos por uso de sustancias (Hussain y Bloom, 2013).

La adicción a la comida es un trastorno alimentario compulsivo que surge de un desequilibrio entre los sistemas de control de la ingesta homeostática y hedónica. Los individuos con adicción a la comida muestran una falta de flexibilidad cognitiva y de control inhibitorio, lo que conduce a una elevada compulsividad, motivación e impulsividad hacia alimentos altamente palatables (Domingo-Rodríguez et al., 2020). A pesar de no estar incluida en el *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition* (DSM-5), la adicción a la comida puede diagnosticarse mediante la *Yale Food Addiction Scale-2* (YFAS-2). YFAS-2 es un cuestionario de 35 ítems basado en los criterios del DSM-5 para el trastorno por consumo de sustancias (Penzenstadler et al., 2019). De forma interesante, según YFAS-2, varios estudios han demostrado que no todas las personas con obesidad presentan adicción a la comida, dado que alrededor del 25-37% de las personas con obesidad y el 60% de las personas con obesidad mórbida son diagnosticadas con adicción a la comida (Gupta et al., 2020), lo que apunta a una etiología bastante similar entre estos trastornos alimentarios.

La dieta occidental es una dieta rica en carbohidratos refinados y grasas saturadas, y constituye el principal factor que conduce a la pérdida de control de la ingesta y la obesidad (López-Taboada et al., 2020). De hecho, la elevada palatabilidad de los alimentos puede inducir cambios desadaptativos en el cerebro, contribuyendo al desarrollo de estas alteraciones conductuales y metabólicas (Moore et al., 2017). Además, la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio desempeñan un papel fundamental en la regulación de la ingesta alimentaria y en la determinación de las elecciones alimentarias. Varios autores han demostrado que las personas con obesidad presentan alteraciones de la memoria (Cheke et al., 2016) y deterioro de la flexibilidad cognitiva (Bocarsly et al., 2015; Song et al., 2022). Asimismo, el consumo de dietas ricas en grasas tiene consecuencias negativas importantes sobre el rendimiento cognitivo (Underwood y Thompson, 2016) y la flexibilidad cognitiva (Magnusson et al., 2015). Por otro lado, los recuer-

dos sobre experiencias alimentarias pasadas determinan hábitos futuros de alimentación y elecciones alimentarias, y guían la atención hacia señales relacionadas con la comida, moldeando así nuestras respuestas cognitivas e inhibitorias relacionadas con el control de la ingesta. Es evidente que los deterioros en la flexibilidad cognitiva y el rendimiento cognitivo pueden exacerbar la sobreingesta y contribuir al desarrollo tanto de la obesidad como de la adicción a la comida (Higgs, 2016). De hecho, dedicar tiempo a actividades secundarias sedentarias y que requieren atención interrumpe la formación y la flexibilidad de la memoria, lo que resulta en un aumento de la ingesta alimentaria (Higgs, 2015). Además, los pacientes con deterioro de la memoria muestran hiperfagia debido a la incapacidad de recordar eventos alimentarios recientes (Higgs et al., 2008). Así, en el caso de la obesidad se forma un círculo vicioso, donde la obesidad induce alteraciones cognitivas, que a su vez exacerbar aún más la pérdida de control de la ingesta y la sobreingesta.

Varios estudios han destacado la implicación de la microbiota intestinal en diversas condiciones de salud, apuntando a una nueva herramienta potencial para la prevención y el tratamiento de enfermedades. La microbiota intestinal participa en la homeostasis intestinal manteniendo la integridad del epitelio intestinal y participando en el metabolismo y la inmunidad. Además de los efectos locales en el intestino, se sabe que la microbiota desempeña un papel en los procesos metabólicos y afecta al funcionamiento cerebral a través del eje intestino-cerebro (Hou et al., 2022; Megur et al., 2022). Por el contrario, las alteraciones de la microbiota debidas al consumo de una dieta occidental o al uso de antibióticos suelen conducir a disbiosis microbiana. La disbiosis intestinal se asocia con un aumento de la permeabilidad intestinal y con inflamación sistémica de bajo grado, lo que posteriormente contribuye a un aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y a una eventual neuroinflamación (Hrncir, 2022; Kearns, 2024). Esta neuroinflamación puede alterar aún más la conducta alimentaria y deteriorar los procesos cognitivos, y se ha relacionado con diversos trastornos psiquiátricos (Alboni et al., 2017; DiSabato et al., 2016). Las personas con obesidad presentan disbiosis intestinal caracterizada por una menor diversidad y abundancia en el microbioma intestinal, con una disminución significativa de bacterias beneficiosas que puede estar relacionada con un deterioro en el control de la ingesta, el rendimiento y la flexibilidad cognitiva (Chen et al., 2021). Varios de estos estudios previos han demostrado que las alteraciones cognitivas observadas en personas con obesidad pueden transferirse a ratones mediante el uso de trasplante de microbiota fecal (FMT) (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a; Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021), apoyando aún más la relación entre microbiota intestinal y respuestas conductuales. De hecho, el FMT de individuos con obesidad provocó una disminución de la memoria a corto plazo y de trabajo (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a), y un deterioro de la flexibilidad cognitiva

y del control inhibitorio en ratones (Arrioriaga-Rodríguez et al., 2021), indicando que las modulaciones de la microbiota pueden modificar potencialmente las funciones cognitivas. El FMT también fue suficiente para transferir el fenotipo depresivo de humanos obesos a ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022a). De forma similar, un estudio reciente ha demostrado que una composición específica de la microbiota intestinal es necesaria para el desarrollo de la adicción a la comida. Así, humanos y ratones con adicción a la comida mostraron una disminución de *Blautia* sp., y el fenotipo adictivo fue prevenido mediante la administración oral de *Blautia wexlerae* en ratones (Samulénaité et al., 2024). Basándonos en estos hallazgos previos, hemos investigado ahora la implicación de la microbiota intestinal en la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio evaluando las consecuencias del FMT de humanos con estos trastornos conductuales en ratones expuestos a dieta obesogénica o estándar.

Método

Participantes humanos

Veinte donantes adultos humanos sanos, mujeres y hombres, fueron seleccionados en función de sus puntuaciones de flexibilidad cognitiva, evaluadas mediante el Test Stroop de Palabras y Colores (SCWT, por sus siglas en inglés), tal como se describió anteriormente (Castells-Nobau et al., 2024). Se investigó el índice de masa corporal (IMC) y el estatus socioeducativo entre los grupos. El SCWT se utiliza para investigar el control inhibitorio y la flexibilidad cognitiva en humanos. La flexibilidad cognitiva/control inhibitorio se evaluó en tres pasos sucesivos. Durante la primera parte, se presentan al paciente 100 tarjetas con palabras impresas (nombres de colores) en tinta negra. Durante la segunda parte, se muestran 100 tarjetas con palabras impresas en diferentes colores de tinta (verde, rojo, azul). Finalmente, durante la prueba, se le presentan al paciente 100 tarjetas con nombres de colores que están impresos en una tinta no coincidente. Cada parte dura 45 segundos, tras lo cual se evalúa al paciente. La flexibilidad cognitiva/control inhibitorio se evalúa utilizando la fórmula: $WC - WC'$ ($WC' = W \times C/W + C$). W (word/palabra) corresponde a la primera parte del experimento, C (color) a la segunda parte, y WC (word-color/palabra-color) a la prueba final. Aquellos pacientes que obtuvieron una puntuación final inferior a cuatro fueron considerados con una flexibilidad cognitiva/control inhibitorio deteriorado. En contraste, aquellos que obtuvieron más de seis fueron considerados con un control inhibitorio/flexibilidad cognitiva óptimos. Las heces de los donantes se prepararon para su administración oral a los ratones en condiciones estériles, con L-cisteína para reducir el oxígeno en el entorno y proteger a las bacterias anaerobias, y un 10% de glicerol para proteger a las bacterias de los daños relacionados con la congelación. Las muestras se alicuotaron y se congelaron a -80 °C.

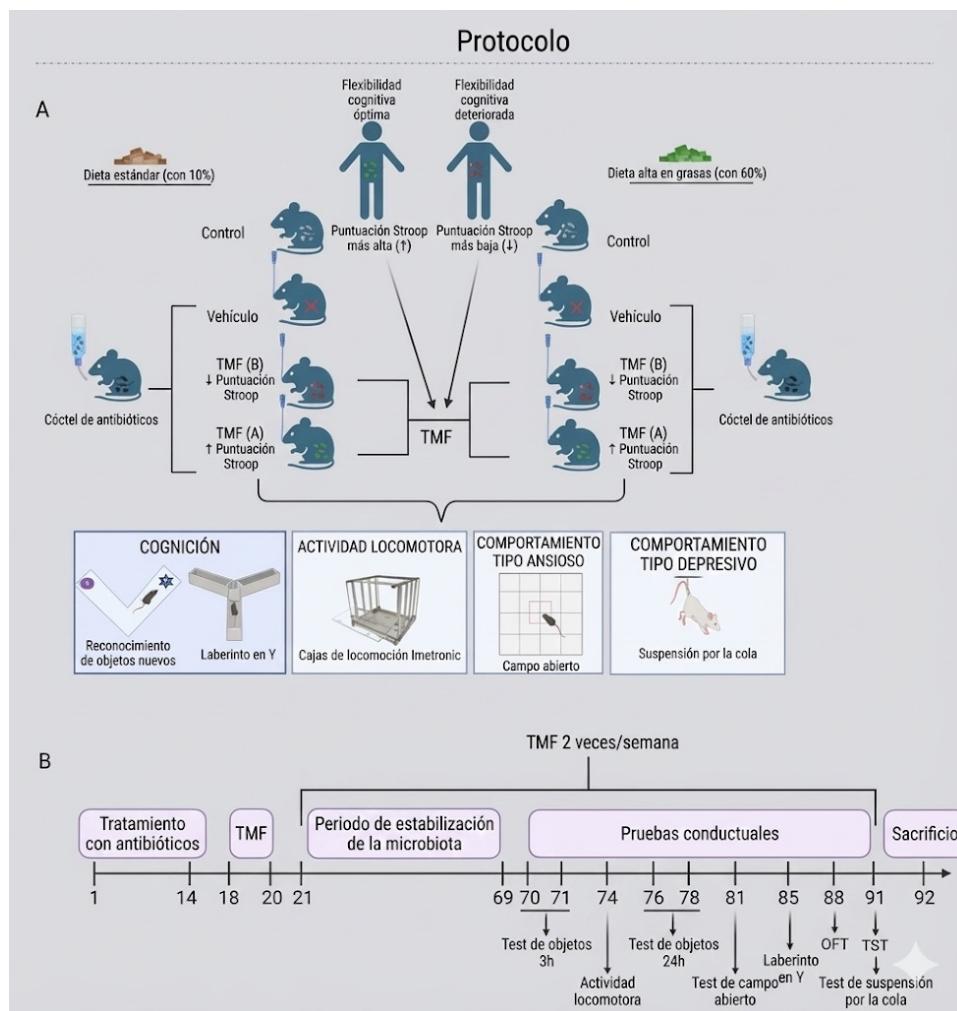
Animales y diseño experimental

Setenta y siete ratones macho C57BL/6J (4 semanas de edad, 17-21 g de peso) fueron alojados individualmente en condiciones de laboratorio controladas, con una temperatura de 21 ± 1 °C y una humedad del $55\% \pm 10\%$, en un ciclo invertido (luces apagadas de 7:30 a.m. a 7:30 p.m.). Se utilizaron ratones convencionales, sin alteraciones iniciales en la composición de su microbiota intestinal. La comida y el agua estuvieron disponibles ad libitum, y se monitorizó el peso corporal de los animales, así como la ingesta de comida y agua durante el protocolo experimental. Todos los experimentos conductuales fueron aprobados por el comité ético local (Comitè Ètic d'Experimentació Animal – Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona) y se realizaron de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas (2010/63/EU). La información relativa a la asignación de grupos experimentales y la línea temporal se representa en la Figura 1A y la Figura 1B, respectivamente. Los ratones se dividieron aleatoriamente en ocho grupos, cuatro de los cuales fueron alimentados con una dieta estándar (w/10%) (~3.514 kcal/kg) y los otros cuatro con una dieta alta en grasas (w/60%) (~5.228 kcal/kg). Las dietas irradiadas y envasadas al vacío se compraron a Altromin (Alemania). Ambos grupos se subdividieron en 1) control, 2) vehículo, 3) FMT de individuos con bajas puntuaciones Stroop (FMT (L)), 4) FMT de individuos con puntuaciones Stroop altas (FMT (H)) (Figura 1A). Cada ratón recibió microbiota de un donante humano específico, permitiendo una evaluación individual del efecto de la microbiota sobre la función cerebral, en el contexto de dietas altas en grasa y estándar.

Todos los grupos, excepto ambos controles, recibieron un cóctel antibiótico (500 mg/L de ampicilina, 500 mg/L de metronidazol, 500 mg/L de vancomicina, 250 mg/L de imipenem, 1 g/L de neomicina) diariamente durante dos semanas en el agua de bebida, como se describió previamente (Kelly et al., 2016). Setenta y dos horas más tarde, los ratones fueron sometidos a gavado oral con suero salino (1x PBS + 1 g/L de L-cisteína + 10% de glicerol) (grupo vehículo) o con material fecal de los donantes (grupos FMT) mediante gavado oral (200 mg/ml, 200 µL) durante tres días consecutivos, como se describió previamente (Arrioriaga-Rodríguez et al., 2020a), y posteriormente dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Tras siete semanas, los ratones fueron expuestos a una serie de pruebas conductuales, incluyendo una prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT 3h y NORT 24h, en los días 70-71 y 76-78, respectivamente), actividad locomotora (día 81), laberinto en Y (día 85), prueba de campo abierto (OFT, día 88) y prueba de suspensión por la cola (TST, día 91). En el último día del estudio (día 92), los ratones fueron sacrificados, y se recolectaron varias áreas cerebrales y plasma sanguíneo para análisis posteriores (Figura 1B).

Figura 1

Protocolo experimental. A. Protocolo experimental y asignación de grupos. B. Cronograma experimental (días)



Nota. A. El material fecal de humanos con flexibilidad cognitiva deteriorada (puntuaciones bajas en Stroop; FMT (L)) u óptima (puntuaciones altas en Stroop; FMT (H)) fue procesado para su administración oral a los ratones. Todos los ratones, excepto el grupo control, recibieron tratamiento antibiótico, seguido de una administración oral de vehículo o trasplante de microbiota fecal (FMT) dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Los ratones fueron alimentados con una dieta estándar o una dieta alta en grasa. Al finalizar el protocolo, se realizaron las pruebas conductuales: prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT) para memoria a corto y largo plazo, laberinto en Y para memoria de trabajo, prueba de campo abierto (OFT) y laberinto en cruz elevado (EPM) para conducta tipo ansiedad, y prueba de suspensión por la cola (TST) para conducta tipo depresión. Además, se evaluó la actividad locomotora.

B. Los ratones recibieron tratamiento antibiótico durante dos semanas; tras un periodo de 72 horas, se realizó la administración oral de vehículo o trasplante de microbiota fecal durante tres días consecutivos y posteriormente dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Después de siete semanas de estabilización, se realizaron las pruebas conductuales para evaluar la memoria a corto plazo (días 70-71) y la memoria a largo plazo (días 76-78) mediante la prueba de reconocimiento de objeto nuevo, la conducta tipo ansiedad mediante el laberinto en cruz elevado (día 74) y la prueba de campo abierto (día 88), y la conducta tipo depresión (día 91) mediante la prueba de suspensión por la cola.

Cognición

Reconocimiento de objeto nuevo

Se realizó una prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT) para evaluar la memoria a largo y a corto plazo, tal como se describió previamente (Burokas et al., 2014). La prueba se lleva a cabo en un laberinto en forma de V (30 cm de largo × 4,5 cm de ancho × 15 cm de altura de cada corredor), iluminado con 2,5 lux en ambas esquinas. En el primer día, los ratones fueron habituados al laberinto durante 9 minutos. Al día siguiente, se introdujo a los ratones en el laberinto con dos objetos idénticos en lados opuestos y se les dejó explorar durante 9 minutos. Tras 3 horas o 24 horas, se realizó la prueba para evaluar la memoria a corto o largo plazo, respectivamente. Durante la prueba, uno

de los objetos familiares fue reemplazado por uno nuevo, y se dejó a los ratones explorar ambas figuras durante 9 minutos; se midió el tiempo total explorando ambos objetos. Se verificó que no existiera preferencia inicial por los objetos utilizados. Se calculó un índice de discriminación (DI) como la diferencia entre el tiempo que el animal pasó explorando el objeto nuevo (Tn) o el familiar (Tf), dividido por el tiempo total de exploración de ambos objetos: $(DI = (Tn - Tf) / (Tn + Tf))$. Un índice de discriminación más alto refleja una mayor retención de memoria para el objeto familiar. Los ratones que exploraron menos de 10 segundos fueron excluidos del análisis. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente usando cronómetros calibrados.

Laberinto Y

La prueba del laberinto en Y se basa en la curiosidad innata de los roedores para explorar áreas previamente no visitadas. Esta prueba se realizó para evaluar la memoria de trabajo, tal como se describió previamente (Vijaya et al., 2024). El laberinto consiste en tres brazos idénticos que se intersectan a 120° (forma de Y; 6,5 cm de ancho × 30 cm de largo × 15 cm de altura), con una iluminación de 10 lux en todas las entradas. Las entradas en los brazos del laberinto se contaron durante 10 minutos (se considera una entrada válida cuando el animal introduce la cabeza y ambas patas delanteras), y se calculó el porcentaje de alternancia espontánea mediante las entradas secuenciales en los tres brazos dividido por el número total de alternancias posibles. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente.

Actividad locomotora

La actividad locomotora se evaluó en cajas individuales de actividad locomotora (10,8 cm de ancho × 20,3 cm de largo × 18,6 cm de altura, Imetronic, Pessac, Francia). La actividad total (número de interrupciones de haces) y el número total de rearings fueron detectados durante 1 hora mediante sensores infrarrojos.

Respuestas tipo-ansiosas

La prueba de campo abierto (OFT) se utilizó para evaluar el comportamiento tipo ansiedad. Esta prueba se basa en el conflicto entre el miedo innato y la evitación de áreas abiertas y brillantes (que imitan una situación de riesgo de depredador) y el instinto de explorar entornos nuevos. Los ratones fueron colocados en el centro de la caja (90 cm × 70 cm, 500 lux), y sus movimientos fueron registrados durante 5 minutos. La preferencia por permanecer en la periferia de la caja indica un comportamiento de mayor ansiedad. El análisis de los datos conductuales se realizó con el software seguimiento de video Smart 3.0.

Respuestas tipo-depresivas

La prueba de suspensión por la cola (TST) evalúa el comportamiento tipo depresivo. Durante la prueba, los ratones fueron suspendidos por la cola con cinta adhesiva en una posición que les impedía escapar o sujetarse a superficies cercanas durante 6 minutos. Se midió el tiempo de inmovilidad (definido como el tiempo durante el cual el animal cuelga pasivamente y sin movimiento), y cuanto mayor es el tiempo de inmovilidad, mayor es el comportamiento tipo depresivo. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente mediante cronómetros calibrados.

Análisis estadísticos

Todos los datos se expresan como media ± error estándar de la media (S.E.M.). Las figuras se prepararon usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software), las ilustraciones se realizaron con Biorender, y el análisis

estadístico se llevó a cabo utilizando IBM SPSS 28.0. La distribución normal de los datos se evaluó en todos los conjuntos de datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk para seleccionar los tests estadísticos apropiados. Se utilizaron comparaciones ANOVA de dos vías o Kruskal-Wallis cuando fue apropiado, seguidas de un análisis post hoc de Fisher o de una prueba U de Mann-Whitney, respectivamente, cuando fue necesario. El tamaño del efecto para el ANOVA de dos vías se calculó como eta cuadrado (η^2) usando SPSS, mientras que el tamaño del efecto para las comparaciones de Kruskal-Wallis (η^2) se calculó manualmente. Valores superiores a 0,14 indican un efecto grande. El tamaño del efecto para la prueba U de Mann-Whitney se calculó manualmente como la correlación biserial de rangos (r), siendo valores r superiores a 0,5 indicativos de un efecto fuerte. En el análisis post hoc de Fisher, el tamaño del efecto se evaluó mediante el d de Cohen, calculado manualmente, considerándose un efecto grande cuando los valores d fueron superiores a 0,8.

Resultados

Se seleccionaron veinte donantes humanos sanos, hombres y mujeres con una edad media de 48 ± 9 . Todos los individuos eran obesos, con un IMC medio de $32,4 \pm 9,8$, de estatus socioeducativo similar, con una media de 13 ± 4 años de educación. Las puntuaciones de Stroop, evaluadas mediante el SCWT, fueron inferiores a 4 en los donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada y superiores a 6 en los donantes con flexibilidad cognitiva óptima. No se observaron diferencias significativas entre la edad, el sexo, el IMC y el estatus socioeducativo entre los grupos con diferentes puntuaciones de flexibilidad cognitiva (Tabla 1).

En el estudio se utilizaron un total de 77 ratones machos C57BL/6J de 4 semanas de edad. Los ratones se dividieron en 8 grupos, con 9-10 ratones por grupo (Figura 1A). La mitad de los ratones fueron alimentados con dieta estándar y la otra mitad fueron expuestos a una dieta alta en grasas. Todos los ratones, excepto el grupo control, recibieron un cóctel de antibióticos para la depleción de la microbiota y se les administró por vía oral un vehículo, como control adicional, o la microbiota intestinal de un donante humano. Cada ratón recibió microbiota de un donante humano específico, lo que permitió la evaluación individual del efecto de la microbiota sobre la función cerebral.

El impacto de la microbiota intestinal en los parámetros metabólicos

Evaluamos el peso corporal, la ingesta de comida, calorías y agua en los ratones durante el protocolo experimental para examinar el impacto de la dieta y de los cambios en la microbiota sobre estos parámetros. Aunque la dieta no afectó de forma principal al peso corporal de los ratones (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 37,481, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$;

Tabla 1*La información sobre los donantes humanos*

Características	General (N = 20)¹	STROOP alto (N = 10)¹	STROOP bajo (N = 10)¹	P valor²
Edad	48 ± 9	47 ± 7	49 ± 11	0,57
Sexo				0,63
1 (Categoría 1)	6 (30%)	4 (40%)	2 (20%)	
2 (Categoría 2)	14 (70%)	6 (60%)	8 (80%)	
IMC	32,4 ± 9,8	32,5 ± 10,8	32,3 ± 9,4	0,97
Años de educación	13 ± 4	13 ± 4	13 ± 3	0,81

¹ Media ± DT; n (%). ² Análisis de medias de una vía; prueba exacta de Fisher.

Nota. La tabla muestra la edad, el sexo, el IMC y los años de educación en la población total y entre los donantes con puntuaciones altas o bajas en la prueba de Stroop.

post-hoc $U = 585$, n.s.; Figura 2A), las modulaciones de la microbiota tuvieron un efecto significativo. En primer lugar, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mostraron una disminución significativa del peso corporal (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 14$, $r = 0,58$, $p < 0,05$; Figura 2A, izquierda), en comparación con el grupo control, sin cambios significativos en otros grupos alimentados con dieta estándar. Sin embargo, los ratones alimentados con dieta alta en grasas que recibieron un cóctel de antibióticos y administración oral de vehículo presentaron una disminución significativa del peso corporal tanto en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 0$, $r = 0,84$, $p < 0,001$; Figura 2A, derecha) como con los grupos experimentales que recibieron FMT de donantes con baja (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 11$, $r = 0,61$, $p < 0,001$; Figura 2A, derecha) o alta (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 12$, $r = 0,62$, $p < 0,001$; Figura 2A, derecha) flexibilidad cognitiva. Además, los grupos experimentales alimentados con dieta alta en grasas y que recibieron FMT también mostraron una disminución del peso corporal en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; FMT (L) post-hoc $U = 2$, $r = 0,81$, $p < 0,001$; FMT (H) post-hoc $U = 0$, $r = 0,84$, $p < 0,001$; Figura 2A, derecha).

A pesar de los cambios en el peso corporal, la ingesta de comida no se vio afectada por la dieta ni por las modulaciones de la microbiota (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 13,230$, n.s.; Figura 2B). Debido a un mayor contenido calórico de la dieta alta en grasas, los ratones consumieron significativamente más calorías en comparación con el grupo de dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 13$, $r = 0,84$, $p < 0,001$; Figura 2C, derecha). Además, se observaron varios cambios entre los grupos con diferentes composiciones de microbiota. En primer lugar, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron administración oral de

vehículo (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 19$, $r = 0,52$, $p < 0,05$; Figura 2C, izquierda), o trasplante de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 13$, $r = 0,84$, $p < 0,01$; Figura 2C, izquierda), o donantes con flexibilidad cognitiva óptima (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 22$, $r = 0,47$, $p < 0,05$; Figura 2C, izquierda) presentaron una disminución significativa en la ingesta calórica en comparación con el grupo control. Se observaron efectos menos pronunciados en los ratones alimentados con dieta alta en grasas, ya que solo los ratones que recibieron FMT de donantes con valores altos de puntuación Stroop disminuyeron significativamente la ingesta calórica en comparación con el control (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 21$, $r = 0,49$, $p < 0,05$; Figura 2C, derecha), sugiriendo un posible papel protector en el desarrollo de la obesidad.

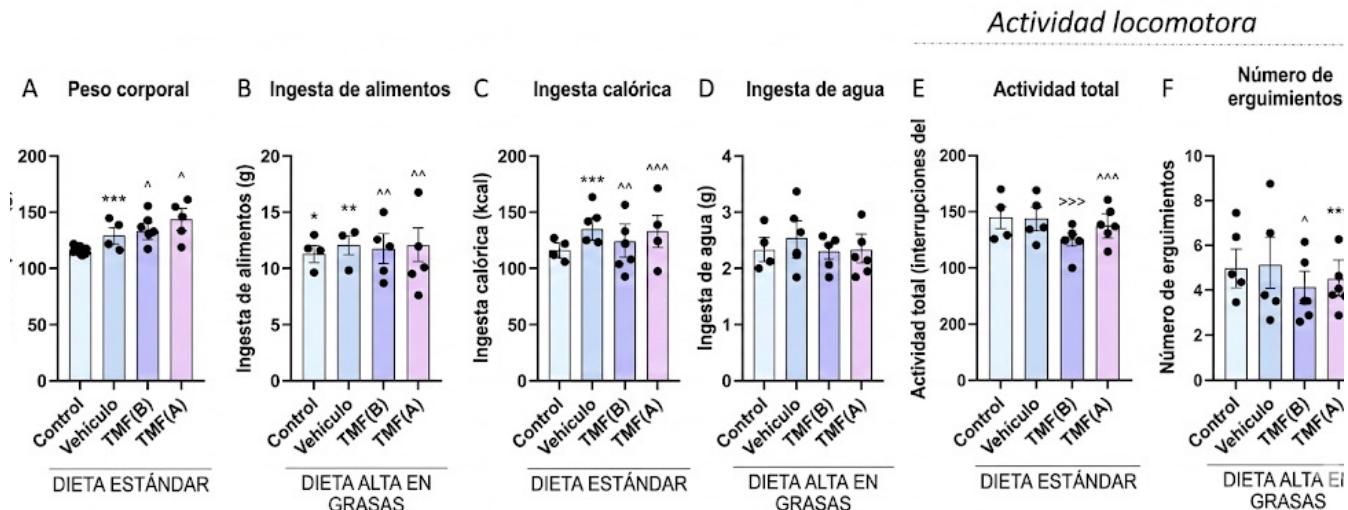
De forma interesante, los ratones alimentados con dieta alta en grasas disminuyeron significativamente la ingesta de agua en comparación con el grupo de dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 35,586$, $\eta^2 = 0,414$, $p < 0,001$; post-hoc $U = 188$, $r = 0,64$, $p < 0,001$; Figura 2D). Aunque el análisis global indicó alteraciones relacionadas con la microbiota en la ingesta de agua, esto no fue confirmado por las comparaciones post hoc posteriores ni en los ratones alimentados con dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 35,586$, $\eta^2 = 0,4143$, $p < 0,001$; control x vehículo, $U = 48$, n.s.; control x FMT (L), $U = 28$, n.s.; control x FMT (H), $U = 32$, n.s.; vehículo x FMT (L), $U = 26$, n.s.; vehículo x FMT (H), $U = 33,5$, n.s.; Figura 2D, izquierda) ni en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (Test de Kruskal-Wallis H; $H (7) = 35,586$, $\eta^2 = 0,4143$, $p < 0,001$; control x vehículo, $U = 31$, n.s.; control x FMT (L), $U = 33$, n.s.; control x FMT (H), $U = 47$, n.s.; vehículo x FMT (L), $U = 40$, n.s.; vehículo x FMT (H), $U = 30$, n.s.; Figura 2D, derecha).

La dieta también tuvo un impacto en la actividad locomotora, como se observó por una actividad significati-

Figura 2

Parámetros metabólicos y actividad locomotora de los ratones. **A.** Peso corporal medio (g). **B.** Ingesta media de alimento (g). **C.** Ingesta media de calorías (kcal). **D.** Ingesta de agua (g). **E.** Actividad locomotora: actividad locomotora total (interrupciones de haz). **F.** Actividad locomotora: número de rearings

Parámetros metabólicos



Nota. **A.** Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis; $H(7) = 37,481$, $\eta^2 = 0,442$, $p < 0,001$; *sig. STD control \times STD FMT (L), post-hoc U = 14, $r = 0,58$, $p < 0,05$; ***sig. HFD control \times HFD vehículo, post-hoc U = 0, $r = 0,84$, $p < 0,001$; **sig. HFD control \times HFD FMT (L), post-hoc U = 2, $r = 0,81$, $p < 0,001$; ***sig. HFD control \times HFD FMT (H), post-hoc U = 0, $r = 0,84$, $p < 0,001$; ^sig. HFD vehículo \times HFD FMT (L), post-hoc U = 11, $r = 0,61$, $p < 0,01$; ^sig. HFD vehículo \times HFD FMT (H), post-hoc U = 12, $r = 0,62$, $p < 0,01$.

C. Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis; $H(7) = 58,909$, $\eta^2 = 0,752$, $p < 0,001$; >>>sig. dieta, post-hoc U = 13, $r = 0,84$, $p < 0,001$; *sig. STD control \times STD vehículo, post-hoc U = 19, $r = 0,52$, $p < 0,05$; **sig. STD control \times STD FMT (L), post-hoc U = 13, $r = 0,59$, $p < 0,01$; *sig. STD control \times STD FMT (H), post-hoc U = 22, $r = 0,47$, $p < 0,05$; *sig. HFD control \times HFD FMT (H), post-hoc U = 21, $r = 0,49$, $p < 0,05$.

D. Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis; $H(7) = 35,586$, $\eta^2 = 0,414$, $p < 0,001$; >>>sig. dieta, post-hoc U = 188, $r = 0,64$, $p < 0,001$.

E. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. Grupos F (3, 69) = 3,393, $\eta^2 = 0,129$, $p < 0,05$; ***sig. HFD control \times HFD vehículo, post-hoc I-J = -978,933, d = 7,49, $p < 0,001$; ^sig. HFD vehículo \times HFD FMT (L), post-hoc I-J = -673,389, d = 1,66, $p < 0,05$; >>>sig. dieta, ANOVA de dos vías dieta, F (1, 69) = 26,712, $\eta^2 = 0,279$, $p < 0,001$.

F. Los datos fueron analizados mediante la prueba H de Kruskal-Wallis; $H(7) = 35,963$, $\eta^2 = 0,419$, $p < 0,001$; ^sig. STD vehículo \times STD FMT (H), post-hoc U = 23, $r = 0,46$, $p < 0,05$; *sig. HFD control \times HFD vehículo, post-hoc U = 17, $r = 0,51$, $p < 0,05$; >>>sig. dieta, post-hoc U = 217,5, $r = 0,61$, $p < 0,001$.

Abreviaturas: STD – dieta estándar; HFD – dieta alta en grasa; FMT – trasplante de microbiota fecal; FMT (L) – FMT de donantes con baja flexibilidad cognitiva; FMT (H) – FMT de donantes con alta flexibilidad cognitiva.

vamente reducida (ANOVA de dos vías; dieta, $F(1, 69) = 26,712$, $\eta^2 = 0,279$, $p < 0,001$; Figura 2E, derecha) y el número de rearings (Test de Kruskal-Wallis H; $H(7) = 35,963$, $\eta^2 = 0,419$, $p < 0,001$; post-hoc U = 217,5, $r = 0,61$, $p < 0,001$; Figura 2F, derecha) en los ratones alimentados con dieta alta en grasas. Estas alteraciones en la actividad locomotora fueron moduladas por la composición de la microbiota. Así, los ratones del grupo vehículo, que tenían la microbiota intestinal depleta con antibióticos, mostraron un aumento significativo en la actividad total (ANOVA de dos vías; dieta, $F(1, 69) = 26,712$, $\eta^2 = 0,279$, $p < 0,001$; post-hoc I-J = -978,933, d = 7,49, $p < 0,001$; Figura 2E, derecha) y en el número de rearings (Test de Kruskal-Wallis H; $H(7) = 35,963$, $\eta^2 = 0,419$, $p < 0,001$; post-hoc U = 17, $r = 0,51$, $p < 0,05$; Figura 2F, derecha), en comparación con los ratones control alimentados con dieta alta en grasas. El grupo de dieta alta en grasas que recibió FMT de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mostró una disminución de la actividad locomotora total en comparación con el grupo vehículo (ANOVA de dos vías; grupos, $F(3, 69) = 3,393$, $\eta^2 = 0,129$, $p < 0,05$; post-hoc I-J = -673,389, d = 1,66, $p < 0,05$; Figura 2E, derecha), pero no en comparación con el grupo control (ANOVA de dos

vías; grupos, $F(3, 69) = 3,393$, $\eta^2 = 0,129$, $p < 0,05$; post-hoc I-J = -303,544, n.s.; Figura 2E, derecha). Finalmente, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron un trasplante de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva óptima mostraron una disminución en el número de rearings en comparación con el grupo vehículo (Test de Kruskal-Wallis H; $H(7) = 35,963$, $\eta^2 = 0,419$, $p < 0,001$; post-hoc U = 23, $r = 0,46$, $p < 0,05$; Figura 2F, izquierda), pero no en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H; $H(7) = 35,963$, $\eta^2 = 0,419$, $p < 0,001$; post-hoc U = 29, n.s.; Figura 2F, izquierda).

La trasplantación de microbiota fecal altera el rendimiento de la memoria

La memoria a corto, largo plazo y de trabajo se evaluaron para comprender mejor las relaciones entre la microbiota intestinal, la flexibilidad cognitiva y el deterioro cognitivo. En primer lugar, no se observó ningún efecto de la dieta sobre la memoria a corto plazo (Kruskal-Wallis H; $H(7) = 16,916$, $\eta^2 = 0,144$; post-hoc U = 683, n.s.; Figura 3A), la memoria a largo plazo (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 61) = 0,139, n.s.; microbiota F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, $p < 0,001$; interacción F (3, 61) = 0,319, n.s.; Figura 3B) y la

memoria de trabajo (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 1,644, n.s.; microbiota F (3, 69) = 1,509, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,183, n.s.; Figura 3C).

El grupo vehículo alimentado con dieta estándar con microbiota intestinal depleta por antibióticos mostró una memoria a corto plazo deteriorada, con un tamaño del efecto elevado (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; post-hoc U = 6, r = 0,74, p < 0,001; Figura 3A). Sin embargo, este mismo efecto no se observó en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; post-hoc U = 23, n.s.; Figura 3A). Este deterioro de la memoria inducido por antibióticos fue revertido mediante la trasplantación de microbiota procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada (Kruskal-Wallis H; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; post-hoc U = 14, r = 0,58, p < 0,05). Mientras tanto, aquellos que recibieron microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva óptima mostraron una tendencia hacia una mejora de la memoria a corto plazo (Kruskal-Wallis H; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; post-hoc U = 22, p = 0,065, n.s.; Figura 3A, izquierda). No se observaron diferencias significativas entre los grupos alimentados con dieta alta en grasas (Kruskal-Wallis H; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; post-hoc control x vehículo U = 23; control x FMT (L) U = 35; control x FMT (H) U = 38; vehículo x FMT (L) U = 39, n.s.; vehículo x FMT (H) U = 23, n.s.; Figura 3A, derecha).

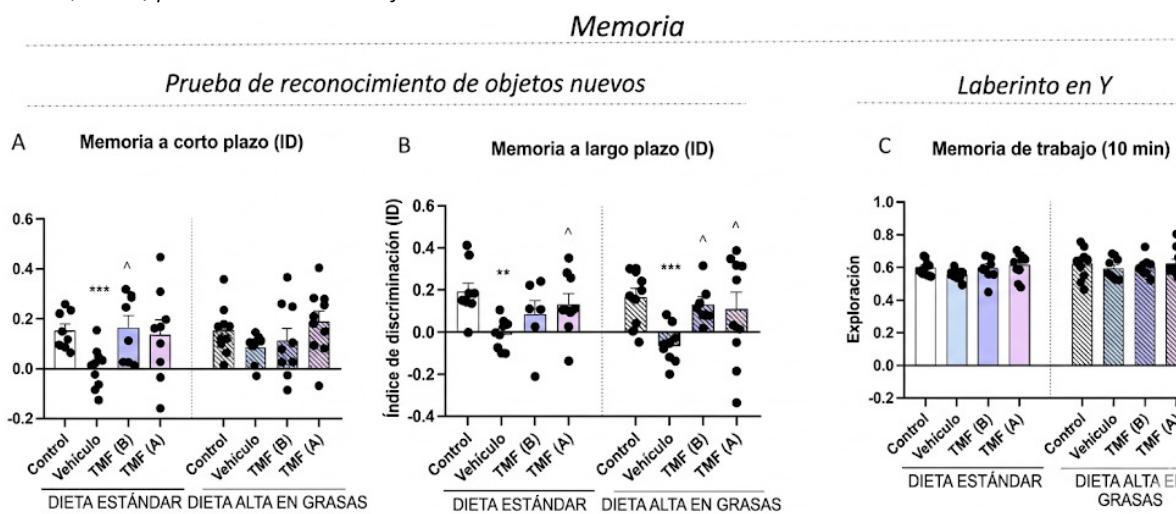
Los efectos sobre la memoria a largo plazo fueron más pronunciados que en la memoria a corto plazo. El grupo

vehículo mostró un deterioro significativo en la memoria a largo plazo, independiente de la dieta (STD control x STD vehículo ANOVA de dos vías; grupos F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, p < 0,001; post-hoc I-J = -0,199, d = 5,82, p < 0,01; HFD control x HFD vehículo post-hoc I-J = -0,226, d = 6,37, p = 0,001; Figura 3B), con un tamaño del efecto elevado. Este deterioro cognitivo fue aliviado por FMT de humanos con puntuaciones Stroop altas tanto en ratones alimentados con dieta estándar (ANOVA de dos vías; grupos F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, p < 0,001; post-hoc I-J = -0,139, d = 3,63, p < 0,05; Figura 3B, izquierda) como en ratones alimentados con dieta alta en grasas (ANOVA de dos vías; grupos F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, p < 0,001; post-hoc I-J = -0,169, d = 2,78, p < 0,05; Figura 3B, derecha). Además, la trasplantación de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada también mejoró la memoria a largo plazo, en comparación con el grupo vehículo, pero solo en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (ANOVA de dos vías; grupos F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, p < 0,001; post-hoc I-J = -0,192, d = 5,97, p < 0,05; Figura 3B, derecha). Estos cambios en la memoria a corto y largo plazo revelan la implicación de la microbiota intestinal en el rendimiento cognitivo.

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en la memoria de trabajo en el contexto de diferentes dietas y composiciones de microbiota (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 1,644, n.s.; microbiota F (3, 69) = 1,509, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,183, n.s.; Figura 3C).

Figura 3

Efecto del trasplante de microbiota fecal sobre la memoria a corto plazo, largo plazo y de trabajo en ratones. A. Índice de discriminación (ID) durante una prueba de reconocimiento de objeto novedoso para memoria a corto plazo (3 h). B. Índice de discriminación (ID) durante una prueba de reconocimiento de objeto novedoso para memoria a largo plazo (24 h). C. Exploración del laberinto en Y (10 min) para memoria de trabajo



Nota. A. Los datos fueron analizados mediante la prueba H de Kruskal-Wallis; H (7) = 16,916, $\eta^2 = 0,144$, p < 0,05; ***sig. STD control x STD vehículo, post-hoc U = 6, r = 0,74, p < 0,001; ^sig. STD vehículo x STD FMT (L), post-hoc U = 14, r = 0,58, p < 0,05.

B. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. Grupos F (3, 61) = 6,957, $\eta^2 = 0,255$, p < 0,001; **sig. STD control x STD vehículo, post-hoc I-J = -0,199, d = 5,82, p < 0,01; ^sig. STD vehículo x STD FMT (H), post-hoc I-J = -0,139, d = 3,63, p < 0,05; ***sig. HFD control x HFD vehículo, post-hoc I-J = -0,226, d = 6,37, p = 0,001; ^sig. HFD vehículo x FMT (L), post-hoc I-J = -0,192, d = 5,97, p < 0,05; ^sig. HFD vehículo x FMT (H), post-hoc I-J = -0,169, d = 2,78, p < 0,05.

Abreviaturas: STD – dieta estándar; HFD – dieta alta en grasa; FMT – trasplante de microbiota fecal; FMT (L) – FMT de donantes con baja flexibilidad cognitiva; FMT (H) – FMT de donantes con alta flexibilidad cognitiva.

El trasplante de microbiota fecal no afectó a la ansiedad ni a la depresión

La dieta alta en grasas no tuvo ningún efecto sobre las conductas de tipo ansioso (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 3,020, n.s.; microbiota F (3, 69) = 0,403, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,586, n.s.; Figura 4A) ni similares a depresión (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 5,237, n.s.; Figura 4B). Además, no se observaron diferencias significativas entre los grupos con diferentes composiciones de microbiota en la prueba de campo abierto, que representa un modelo de conducta de tipo ansioso (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 3,020, n.s.; microbiota F (3, 69) = 0,403, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,586, n.s.; Figura 4A), ni en la prueba de suspensión por la cola, que representa una conducta de tipo depresivo (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 5,237, n.s.; Figura 4B).

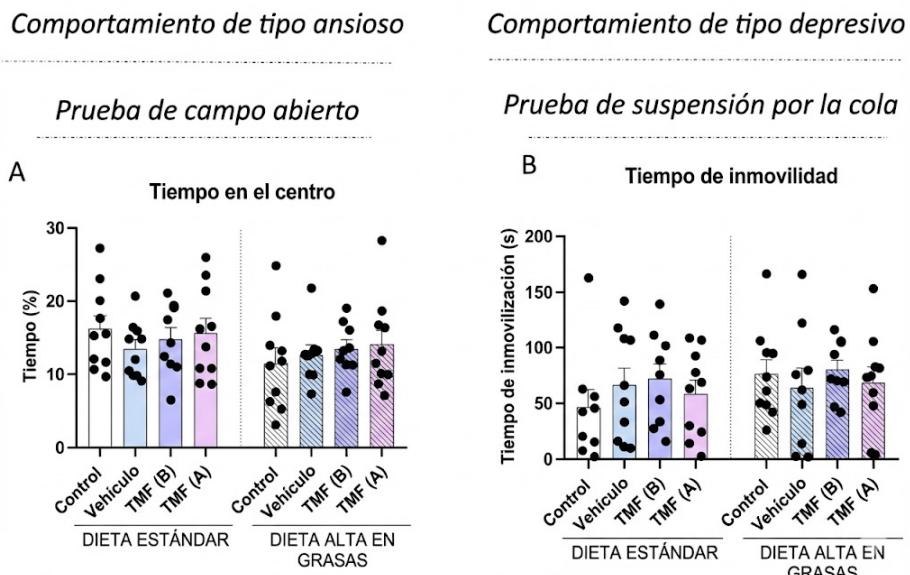
Discusión

En este estudio, hemos revelado la relación entre la flexibilidad cognitiva y diferentes parámetros del rendimiento cognitivo, proporcionando nuevos conocimientos para comprender los mecanismos implicados en la pérdida de control de la ingesta, que presenta estrechas similitudes conductuales con las alteraciones de conducta que subyacen a los trastornos por uso de sustancias. En primer lugar, demostramos déficits cognitivos inducidos por antibióticos, los cuales fueron aliviados mediante TFM. En este sentido, la TFM procedente de individuos con puntuaciones altas de flexibilidad cognitiva/control inhibitorio mejoró la memoria a largo plazo independientemente de la dieta. Sin embargo, no se observó ningún efecto significativo en la memoria a corto plazo. De manera notable, el trasplante de microbiota procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mejoró la memoria a corto plazo en los ratones alimentados con dieta estándar y la memoria a largo plazo en los ratones alimentados con una dieta alta en grasas. En conjunto, nuestros resultados indican que la dieta y la composición de la microbiota influyen en la función cerebral. En nuestras condiciones experimentales no se observó ningún efecto de la TFM o de la exposición a la dieta sobre las conductas tipo ansiedad o tipo depresión.

La TFM ha sido ampliamente investigada como una herramienta prometedora para estudiar el papel de la microbiota intestinal en diversas condiciones fisiopato-

lógicas. De hecho, teniendo en cuenta la implicación de la microbiota intestinal en las respuestas conductuales y en las funciones metabólicas, se ha observado que la TFM puede inducir importantes modificaciones metabólicas en ratones, incluyendo una mejora en los niveles de glucosa en ayunas (Qiu et al., 2023), diabetes tipo 2 (Chen et al., 2023), sensibilidad a la insulina (Vrieze et al., 2012; Wu et al., 2023), perfil lipídico (Liang et al., 2022), peso corporal (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020b; Mayneris-Perxachs et al., 2020) y varios deterioros conductuales mediados por el sistema nervioso central (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021; Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a). Además de los efectos periféricos, la microbiota intestinal también tiene un impacto significativo sobre las respuestas conductuales. Varios estudios han mostrado que la TFM procedente de donantes sanos ha mejorado los síntomas de diversas condiciones neurológicas y psiquiátricas, incluyendo el trastorno del espectro autista, el dolor neuropático, la epilepsia, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la depresión, entre otras (Vendrik et al., 2020). Algunos de estos estudios también han puesto de manifiesto el impacto de la microbiota intestinal en el rendimiento cognitivo. Así, los individuos con mala memoria presentaban una baja diversidad microbiana, lo que subraya esta comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro en el control cognitivo (El-Sayed et al., 2021). En ratones, el deterioro cognitivo inducido por antibióticos fue revertido mediante el uso de dos cepas bacterianas diferentes a través de la producción de neurotransmisores y la actividad antioxidante (Yarullina et al., 2024). El ejercicio, uno de los principales moduladores de la microbiota, muestra un potencial para aliviar los déficits hipocampales inducidos por la microbiota. De hecho, los ratones tratados con anti-

Figura 4
Efecto del trasplante de microbiota fecal sobre la conducta tipo ansiedad y la conducta tipo depresión en ratones. A. Tiempo (%) en el centro de la prueba de campo abierto. B. Tiempo de inmovilidad (s) durante la prueba de suspensión por la cola



bióticos muestran inflamación de bajo grado y déficits en la conducta inducida por la separación, que fueron mitigados mediante el ejercicio (Nicolas et al., 2024). En otro estudio, el deterioro cognitivo inducido por antibióticos fue revertido mediante el uso de dos cepas diferentes de *Lactobacillus* a través de la producción de neurotransmisores y actividad antioxidante (Yarullina et al., 2024). De manera similar, en nuestro estudio, demostramos que el tratamiento con antibióticos indujo déficits cognitivos que fueron mejorados mediante el trasplante de microbiota, independientemente de las puntuaciones de flexibilidad cognitiva de los donantes humanos, confirmando tanto el efecto perjudicial de los antibióticos como el efecto crucial de la recolonización de la microbiota sobre el rendimiento cognitivo.

Previamente encontramos que la microbiota intestinal de donantes obesos conducía a deterioros en la memoria de trabajo y la memoria a corto plazo. Este deterioro cognitivo se asoció con el metabolismo del triptófano relacionado con la microbiota (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a). Otros estudios han demostrado que las arqueas metanógenas se correlacionaban con un mejor rendimiento cognitivo, mientras que la TFM procedente de seres humanos que contenían mayores cantidades del arquea *M. smithii* produjo un mejor control inhibitorio en ratones (Fumagalli et al., 2025). Además, los virus también desempeñan un papel crucial en la función de la microbiota intestinal, ya que niveles más altos de Caudovirales en humanos se asociaron con funciones ejecutivas y memoria verbal mejoradas. De manera interesante, la TFM procedente de donantes humanos con niveles altos de Caudovirales mejoró la memoria a corto plazo y la memoria emocional en ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022b), mientras que la TFM de individuos portadores de *Blastocystis* deterioró la función cognitiva en ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022c). Por el contrario, otro estudio mostró que un microorganismo eucariota encontrado en el intestino, concretamente *Blastocystis*, indujo déficits en la función ejecutiva junto con alteraciones adicionales en la microbiota intestinal. El deterioro cognitivo relacionado con la obesidad se vinculó a la expresión génica del tejido adiposo responsable de la alteración de la función cognitiva (Oliveras-Cañellas et al., 2023). En nuestro estudio, hemos demostrado que el trasplante de microbiota procedente de sujetos obesos (IMC superior a 30) con alta y baja flexibilidad cognitiva mejoró de manera diferencial la memoria a corto y largo plazo en función de la dieta. Específicamente, la TFM procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mejoró la memoria a corto plazo únicamente en los ratones alimentados con dieta estándar y la memoria a largo plazo en los ratones alimentados con dieta alta en grasas. En contraste, la TFM procedente de donantes con puntuaciones Stroop altas mejoró significativamente la memoria a largo plazo independientemente de la dieta. No se observaron efectos significativos en la memoria de trabajo, que refleja

fuertemente la flexibilidad cognitiva, lo que indica que el rendimiento de la memoria, más que la flexibilidad cognitiva, podría ser modulado por modificaciones de la microbiota. Contrariamente a nuestros hallazgos, un estudio previo demuestra coherencia en los resultados cuando la TFM procedente de humanos obesos con control inhibitorio deteriorado condujo a alteraciones similares en la prueba de inversión (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021), lo que sugiere que podrían realizarse pruebas conductuales más amplias para evaluar la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio en futuros experimentos.

La dieta occidental es un patrón alimentario poco saludable caracterizado por el consumo de alimentos altamente palatables ricos en azúcares y grasas. Debido a su alta palatabilidad, es la principal causa de pérdida de control de la ingesta, obesidad y el desequilibrio microbiano asociado (Burokas et al., 2018; Espinosa-Carrasco et al., 2018; Mancino et al., 2015; Martín-García et al., 2010; Samulénaitė et al., 2024). En este estudio, la exposición a una dieta alta en grasas no indujo un fenotipo obeso en los ratones. Por el contrario, la combinación del tratamiento con antibióticos y la dieta alta en grasas condujo a una disminución significativa del peso corporal. Mientras tanto, los grupos TFM, independientemente del contenido de la microbiota, mostraron un peso corporal intermedio, significativamente mayor que en los ratones tratados con antibióticos, pero menor en comparación con el control alimentado con dieta rica en grasas. Este efecto relacionado con los antibióticos ya había sido descrito (Luo et al., 2023), sugiriendo una explicación de por qué no se obtuvo el fenotipo obeso, a pesar de la ingesta de una dieta alta en grasas. La duración del protocolo y los procedimientos continuos de TFM también podrían haber contribuido al fenotipo sin aumento de peso. Por otro lado, una dieta alta en grasas disminuyó significativamente la ingesta de agua, el número de rearings y la actividad locomotora total, lo cual coincide con estudios previos (Bjursell et al., 2008; Volcko et al., 2020; Yokoyama et al., 2020). La composición de la microbiota también alteró la actividad locomotora. En este sentido, los ratones tratados con antibióticos y alimentados con dieta rica en grasas mostraron un aumento sustancial en la actividad locomotora total y en los rearings, lo cual es coherente con el menor peso corporal de estos ratones. Este aumento en la actividad locomotora fue aliviado por la TFM de donantes con baja flexibilidad cognitiva, pero no por la TFM de donantes con alta flexibilidad cognitiva, aunque se observó una tendencia hacia una menor actividad. A pesar de no observarse diferencias significativas en la ingesta, los ratones alimentados con dieta alta en grasas aumentaron significativamente la ingesta calórica, indicando cambios en la conducta alimentaria asociados a la obesidad. Sin embargo, esto no fue suficiente para alterar el peso corporal. La exposición a alimentos palatables también puede inducir alteraciones en el sistema de recompensa cerebral,

contribuyendo a la pérdida de control de la ingesta (Berding et al., 2021; Martín-García et al., 2011; Requena et al., 2018). De hecho, la palatabilidad de los alimentos es un componente clave en el desarrollo de la adicción a la comida, ya que los ratones mantuvieron un condicionamiento operante estable principalmente cuando la respuesta era reforzada por pellets altamente palatables con sabor a chocolate (García-Blanco et al., 2022). Sin embargo, a pesar del solapamiento entre obesidad y adicción a la comida, se reveló un perfil de microbiota distinto entre mujeres obesas con o sin adicción a la comida (Dong et al., 2020). Además, las funciones ejecutivas suelen estar deterioradas en la adicción a la comida, lo que contribuye a un mayor sobreconsumo. De manera interesante, los individuos obesos también presentan un mal control inhibitorio, que correlaciona positivamente con cambios potencialmente perjudiciales en la microbiota intestinal, mientras que se observaron correlaciones negativas con microbiota beneficiosa tanto en humanos como en ratones (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021; Castells-Nobau et al., 2024; Samulénaité et al., 2024).

En resumen, este estudio destaca la interacción entre la alteración de la flexibilidad cognitiva relacionada con la pérdida de control de la ingesta y las alteraciones de la microbiota intestinal. Hemos demostrado que la microbiota desempeña un papel crucial en el rendimiento cognitivo, ya que los ratones con microbiota depleta mediante antibióticos presentaron una memoria a corto y largo plazo sustancialmente deteriorada. Además, la microbiota relacionada con el fenotípico de flexibilidad cognitiva en humanos produce cambios cognitivos importantes mediante la TFM en ratones que dependen de la exposición dietética. Estas respuestas cognitivas están estrechamente relacionadas con la pérdida de control de la ingesta, que conduce al sobrepeso y la obesidad. Considerando la falta de estrategias terapéuticas efectivas para combatir la pérdida de control de la ingesta, nuestros resultados podrían abrir una nueva perspectiva terapéutica para futuras estrategias basadas en la microbiota dirigidas a este trastorno conductual y a sus comorbilidades relacionadas.

A pesar de estos resultados, nuestro estudio presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, los grupos control no explican completamente los efectos observados. Otro grupo control con ratones pretratados con antibióticos que recibieran autotrasplante y un grupo experimental adicional que recibiera TFM de un donante con control inhibitorio intermedio podrían proporcionar más explicaciones para los resultados obtenidos. Además, utilizamos únicamente ratones machos en nuestro estudio, aunque los donantes humanos eran de ambos sexos. Finalmente, podrían implementarse más pruebas conductuales para investigar la flexibilidad cognitiva en ratones y obtener una mejor comprensión de cómo la microbiota intestinal afecta a la flexibilidad cognitiva.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el “Ministerio de Ciencia e Innovación y Agencia Estatal de Investigación” (#PID2020-120029GB-I00/MICIN/AEI/10.13039/501100011033) y (FPU20/05652), la “Generalitat de Catalunya, AGAUR” (#2021 SGR 00912), el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (proyecto nº 01.2.2-LMT-K-718-03-0099) bajo un acuerdo de subvención con el Consejo de Investigación de Lituania (LMTLT), “ICREA-Acadèmia” (#2020), el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII, Madrid, España) a través del proyecto PI20/01090 (cofinanciado por la Unión Europea en el marco del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) “Una manera de hacer Europa”).

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias

- Alboni, S., Micioni Di Bonaventura, M. V., Benatti, C., Giusepponi, M. E., Brunello, N. y Cifani, C. (2017). Hypothalamic expression of inflammatory mediators in an animal model of binge eating. *Behavioural Brain Research*, 320, 420–430. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.10.044>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Contreras-Rodríguez, O., Blasco, G., Coll, C., Biarnés, C., Miranda-Olivos, R., Latorre, J., Moreno-Navarrete, J. M., Castells-Nobau, A., Sabater, M., Palomo-Buitrago, M. E., Puig, J., Pedraza, S., Gich, J., Pérez-Brocal, V., Ricart, W., Moya, A.,... Fernández-Real, J. M. (2020a). Obesity Impairs Short-Term and Working Memory through Gut Microbial Metabolism of Aromatic Amino Acids. *Cell Metabolism*, 32(4), 548-560.e7. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2020.09.002>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Portero-Otin, M., Ricart, W., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2020b). Gut bacterial ClpB-like gene function is associated with decreased body weight and a characteristic microbiota profile. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00837-6>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Contreras-Rodríguez, O., Burokas, A., Ortega-Sánchez, J. A., Blasco, G., Coll, C., Biarnés, C., Castells-Nobau, A., Puig, J., Garre-Olmo, J., Ramos, R., Pedraza, S., Brugada, R., Vilanova, J. C., Serena, J., Barretina, J., Gich, J., Pérez-Brocal, V.,... Fernández-Real, J. M. (2021). Obesity-Associated Deficits in Inhibitory Control Are Phenocopied to Mice through Gut Microbiota Changes in One-Carbon and Aromatic Amino Acids Metabolic Pathways. *Gut*, 0, 26. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323371>
- Berding, K., Vlckova, K., Marx, W., Schellekens, H., Stanton, C., Clarke, G., Jacka, F., Dinan, T. G. y Cryan, J. F. (2021). Diet and the Microbiota–Gut–Brain Axis: Sowing the Seeds

- of Good Mental Health. *Advances in Nutrition*, 12(4), 1239. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAA181>
- Bjursell, M., Gerdin, A. K., Lelliott, C. J., Egecioglu, E., Elmgren, A., Törnell, J., Oscarsson, J. y Bohlooly-Y, M. (2008). Acutely reduced locomotor activity is a major contributor to Western diet-induced obesity in mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 294(2), 251–260. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00401.2007/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH10010852180006.JPG>
- Bocarsly, M. E., Fasolino, M., Kane, G. A., Lamarca, E. A., Kirschen, G. W., Karatsoreos, I. N., McEwen, B. S. y Gould, E. (2015). Obesity diminishes synaptic markers, alters Microglial morphology, and impairs cognitive function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(51), 15731–15736. https://doi.org/10.1073/PNAS.1511593112/SUPPL_FILE/PNAS.1511593112.SAPP.PDF
- Burokas, A., Martín-García, E., Espinosa-Carrasco, J., Erb, I., McDonald, J., Notredame, C., Dierssen, M. y Maldonado, R. (2018). Extinction and reinstatement of an operant responding maintained by food in different models of obesity. *Addiction Biology*, 23(2), 544–555. <https://doi.org/10.1111/ADB.12597>
- Burokas, A., Martín-García, E., Gutiérrez-Cuesta, J., Rojas, S., Herance, J. R., Gispert, J. D., Serra, M. Á. y Maldonado, R. (2014). Relationships between serotonergic and cannabinoid system in depressive-like behavior: A PET study with [11C]-DASB. *Journal of Neurochemistry*, 130(1), 126–135. <https://doi.org/10.1111/JNC.12716>
- Castells-Nobau, A., Puig, I., Motger-Albertí, A., de la Vega-Correia, L., Rosell-Díaz, M., Arnoriaga-Rodríguez, M., Escrichs, A., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Ramió-Torrentà, L., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Pamplona, R., Jové, M., Sol, J., Martin-Garcia, E., Martinez-Garcia, M., Deco, G.,... Mayneris-Perxachs, J. (2024). Microviridae bacteriophages influence behavioural hallmarks of food addiction via tryptophan and tyrosine signalling pathways. *Nature Metabolism*. <https://doi.org/10.1038/S42255-024-01157-X>
- Cheke, L. G., Simons, J. S. y Clayton, N. S. (2016). Higher body mass index is associated with episodic memory deficits in young adults. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* (2006), 69(11), 2305. <https://doi.org/10.1080/17470218.2015.1099163>
- Chen, L., Guo, L., Feng, S., Wang, C., Cui, Z., Wang, S., Lu, Q., Chang, H., Hang, B., Snijders, A. M., Mao, J. H., Lu, Y. y Ding, D. (2023). Fecal microbiota transplantation ameliorates type 2 diabetes via metabolic remodeling of the gut microbiota in db/db mice. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 11(3), e003282. <https://doi.org/10.1136/BMJDRC-2022-003282>
- Chen, Y., Zhou, J. y Wang, L. (2021). Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.625913/FULL>
- DiSabato, D. J., Quan, N. y Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: The Devil is in the Details. *Journal of Neurochemistry*, 139(Suppl 2), 136. <https://doi.org/10.1111/JNC.13607>
- Domingo-Rodríguez, L., Ruiz de Azua, I., Dominguez, E., Senabre, E., Serra, I., Kummer, S., Navandar, M., Baddenhausen, S., Hofmann, C., Andero, R., Gerber, S., Navarrete, M., Dierssen, M., Lutz, B., Martín-García, E. y Maldonado, R. (2020). A specific prelimbic-nucleus accumbens pathway controls resilience versus vulnerability to food addiction. *Nature Communications*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14458-y>
- Dong, T. S., Mayer, E. A., Osadchiy, V., Chang, C., Katzka, W., Lagishetty, V., Gonzalez, K., Kalani, A., Stains, J., Jacobs, J. P., Longo, V. D. y Gupta, A. (2020). A Distinct Brain-Gut-Microbiome Profile Exists for Females with Obesity and Food Addiction. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(8), 1477. <https://doi.org/10.1002/OBY.22870>
- El-Sayed, A., Aleya, L. y Kamel, M. (2021). Microbiota's role in health and diseases. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(28), 36967. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-14593-Z>
- Espinosa-Carrasco, J., Burokas, A., Fructuoso, M., Erb, I., Martín-García, E., Gutiérrez-Martos, M., Notredame, C., Maldonado, R. y Dierssen, M. (2018). Time-course and dynamics of obesity-related behavioral changes induced by energy-dense foods in mice. *Addiction Biology*, 23(2), 531–543. <https://doi.org/10.1111/ADB.12595>
- Fumagalli, A., Castells-Nobau, A., Trivedi, D., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Ramió-Torrentà, L., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Swann, J., Martin-Garcia, E., Maldonado, R., Fernández-Real, J. M. y Mayneris-Perxachs, J. (2025). Archaea methanogens are associated with cognitive performance through the shaping of gut microbiota, butyrate and histidine metabolism. *Gut Microbes*, 17(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2455506>
- García-Blanco, A., Domingo-Rodríguez, L., Cabana-Domínguez, J., Fernández-Castillo, N., Pineda-Cirera, L., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Espinosa-Carrasco, J., Arboleya, S., Latorre, J., Stanton, C., Cormand, B., Fernández-Real, J. M., Martín-García, E. y Maldonado, R. (2022). miRNA signatures associated with vulnerability to food addiction in mice and humans. *Journal of Clinical Investigation*, 132(10). <https://doi.org/10.1172/JCI156281>
- Gupta, A., Osadchiy, V. y Mayer, E. A. (2020). Brain-gut-microbiome interactions in obesity and food addiction. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17(11), 655–672. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0341-5>
- Higgs, S. (2015). Social norms and their influence on eating behaviours. *Appetite*, 86, 38–44. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2014.10.021>
- Higgs, S. (2016). Cognitive processing of food rewards. *Appetite*, 104, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.10.003>
- Higgs, S., Williamson, A. C., Rotshtein, P. y Humphreys, G. W. (2008). Sensory-Specific Satiety Is Intact in Amnesics Who

- Eat Multiple Meals. *Psychological Science*, 19(7), 623–628. <https://doi.org/10.1111/J.1467-9280.2008.02132.X>
- Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J. y Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1, 7(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
- Hrncir, T. (2022). Gut Microbiota Dysbiosis: Triggers, Consequences, Diagnostic and Therapeutic Options. *Microorganisms*, 10(3), 578. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10030578>
- Hussain, S. S. y Bloom, S. R. (2013). The regulation of food intake by the gut-brain axis: Implications for obesity. *International Journal of Obesity* (2005), 37(5), 625–633. <https://doi.org/10.1038/IJO.2012.93>
- Kearns, R. (2024). Gut–Brain Axis and Neuroinflammation: The Role of Gut Permeability and the Kynurenone Pathway in Neurological Disorders. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2024 44:1, 44(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/S10571-024-01496-Z>
- Kelly, J. R., Borre, Y., O’ Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F. y Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.07.019>
- Kloock, S., Ziegler, C. G. y Dischinger, U. (2023). Obesity and its comorbidities, current treatment options and future perspectives: Challenging bariatric surgery? *Pharmacology & Therapeutics*, 251, 108549. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMATHERA.2023.108549>
- Liang, F., Lu, X., Deng, Z., Zhong, H. J., Zhang, W., Li, Q., Zhou, H. H., Liou, Y. L. y He, X. X. (2022). Effect of Washed Microbiota Transplantation on Patients With Dyslipidemia in South China. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2022.827107>
- López-Taboada, I., González-Pardo, H. y Conejo, N. M. (2020). Western Diet: Implications for Brain Function and Behavior. *Frontiers in Psychology*, 11, 23. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2020.564413>
- Luo, S., Zhang, H., Jiang, X., Xia, Y., Tang, S., Duan, X., Sun, W., Gao, M., Chen, C., Zou, Z., Zhou, L. y Qiu, J. (2023). Antibiotics administration alleviates the high fat diet-induced obesity through altering the lipid metabolism in young mice. *Lipids*, 58(1), 19–32. <https://doi.org/10.1002/LIPD.12361>
- Magnusson, K. R., Hauck, L., Jeffrey, B. M., Elias, V., Humphrey, A., Nath, R., Perrone, A. y Bermudez, L. E. (2015). Relationships between diet-related changes in the gut microbiome and cognitive flexibility. *Neuroscience*, 300, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.016>
- Mancino, S., Burokas, A., Gutiérrez-Cuesta, J., Gutiérrez-Martos, M., Martín-García, E., Pucci, M., Falconi, A., D’Addato, rio, C., Maccarrone, M. y Maldonado, R. (2015). Epigenetic and Proteomic Expression Changes Promoted by Eating Addictive-Like Behavior. *Neuropharmacology* 2015 40:12, 40(12), 2788–2800. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.129>
- Martín-García, E., Burokas, A., Kostrzewska, E., Gieryk, A., Korostynski, M., Ziolkowska, B., Przewlocka, B., Przewlocki, R. y Maldonado, R. (2011). New operant model of reinstatement of food-seeking behavior in mice. *Psychopharmacology*, 215(1), 49–70. <https://doi.org/10.1007/S00213-010-2110-6>
- Martín-García, E., Burokas, A., Martín, M., Berrendero, F., Rubí, B., Kiesselbach, C., Heyne, A., Gispert, J. D., Millán, O. y Maldonado, R. (2010). Central and peripheral consequences of the chronic blockade of CB1 cannabinoid receptor with rimonabant or taranabant. *Journal of Neurochemistry*, 112(5), 1338–13351. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2009.06549.X>
- Mayneris-Perxachs, J., Arnoriaga-Rodríguez, M., Luque-Córdoba, D., Priego-Capote, F., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Burokas, A., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2020). Gut microbiota steroid sexual dimorphism and its impact on gonadal steroids: Influences of obesity and menopausal status. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00913-x>
- Mayneris-Perxachs, J., Castells-Nobau, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Martín, M., de la Vega-Correa, L., Zapata, C., Burokas, A., Blasco, G., Coll, C., Escrichs, A., Biarnés, C., Moreno-Navarrete, J. M., Puig, J., Garre-Olmo, J., Ramos, R., Pedraza, S., Brugada, R., Vilanova, J. C., Serena, J.,..., Fernández-Real, J. M. (2022a). *Microbiota alterations in proline metabolism impact depression*. 34(5), 681–701.e10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35508109/>
- Mayneris-Perxachs, J., Castells-Nobau, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Martínez-Hernández, F., Burokas, A., Coll, C., Moreno-Navarrete, J. M., Zapata-Tona, C., Pedraza, S., Pérez-Brocal, V., Ramió-Torrentà, L., Ricart, W., Moya, A., Martínez-García, M., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2022b). Caudovirales bacteriophages are associated with improved executive function and memory in flies, mice, and humans. *Cell Host & Microbe*, 30(3), 340–356.e8. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2022.01.013>
- Mayneris-Perxachs, J., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Treliš, M., Burokas, A., Coll, C., Zapata-Tona, C., Pedraza, S., Pérez-Brocal, V., Ramió, L., Ricart, W., Moya, A., Jové, M., Sol, J., Portero-Otin, M., Pamplona, R., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2022c). Presence of Blastocystis in gut microbiota is associated with cognitive traits and decreased executive function. *The ISME Journal*, 16(9), 2181–2197. <https://doi.org/10.1038/S41396-022-01262-3>
- Megur, A., Daliri, E. B. M., Baltriukienė, D. y Burokas, A. (2022). Prebiotics as a Tool for the Prevention and Treatment of Obesity and Diabetes: Classification and Ability to

- Modulate the Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS23116097>
- Moore, C. F., Sabino, V., Koob, G. F. y Cottone, P. (2017). Pathological Overeating: Emerging Evidence for a Compulsivity Construct. *Neuropharmacology*, 42(7), 1375–1389. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.269>
- Nicolas, S., Dohm-Hansen, S., Lavelle, A., Bastiaanssen, T. F. S., English, J. A., Cryan, J. F. y Nolan, Y. M. (2024). Exercise mitigates a gut microbiota-mediated reduction in adult hippocampal neurogenesis and associated behaviours in rats. *Translational Psychiatry*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/S41398-024-02904-0>
- Oliveras-Cañellas, N., Castells-Nobau, A., de la Vega-Correa, L., Latorre-Luque, J., Motger-Albertí, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Zapata-Tona, C., Coll-Martínez, C., Ramió-Torrentà, L., Moreno-Navarrete, J. M., Puig, J., Villarroya, F., Ramos, R., Casadó-Anguera, V., Martín-García, E., Maldonado, R., Mayneris-Perxachs, J. y Fernández-Real, J. M. (2023). Adipose tissue coregulates cognitive function. *Science Advances*, 9(32). <https://doi.org/10.1126/SCIAADV.ADG4017>
- Penzenstadler, L., Soares, C., Karila, L. y Khazaal, Y. (2019). Systematic Review of Food Addiction as Measured with the Yale Food Addiction Scale: Implications for the Food Addiction Construct. *Current Neuropharmacology*, 17(6), 526. <https://doi.org/10.2174/1570159X16666181108093520>
- Qiu, B., Liang, J. X. y Li, C. (2023). Effects of fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLOS ONE*, 18(7), e0288718. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0288718>
- Requena, T., Martínez-Cuesta, M. C. y Peláez, C. (2018). Diet and microbiota linked in health and disease. *Food & Function*, 9(2), 688–704. <https://doi.org/10.1039/C7FO01820G>
- Samulénaitė, S., García-Blanco, A., Mayneris-Perxachs, J., Domingo-Rodríguez, L., Cabana-Domínguez, J., Fernández-Castillo, N., Gago-García, E., Pineda-Cirera, L., Burokas, A., Espinosa-Carrasco, J., Arboleya, S., Latorre, J., Stanton, C., Hosomi, K., Kunisawa, J., Cormand, B., Fernández-Real, J. M., Maldonado, R. y Martín-García, E. (2024). Gut microbiota signatures of vulnerability to food addiction in mice and humans. *Gut*, gutjnl-2023-331445. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2023-331445>
- Song, S., Li, Q., Jiang, Y., Liu, Y., Xu, A., Liu, X. y Chen, H. (2022). Do Overweight People Have Worse Cognitive Flexibility? Cues-Triggered Food Craving May Have a Greater Impact. *Nutrients*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/NU14020240>
- Underwood, E. L. y Thompson, L. T. (2016). A High-Fat Diet Causes Impairment in Hippocampal Memory and Sex-Dependent Alterations in Peripheral Metabolism. *Neural Plasticity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7385314>
- Vendrik, K. E. W., Ooijevaar, R. E., de Jong, P. R. C., Laman, J. D., van Oosten, B. W., van Hilten, J. J., Ducarmon, Q. R., Keller, J. J., Kuijper, E. J. y Contarino, M. F. (2020). Fecal Microbiota Transplantation in Neurological Disorders. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 98. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2020.00098/FULL>
- Vijaya, A. K., Kuras, S., Šimoliūnas, E., Mingaila, J., Makovskytė, K., Buišas, R., Daliri, E. B. M., Meškys, R., Balatriukienė, D. y Burokas, A. (2024). Prebiotics Mitigate the Detrimental Effects of High-Fat Diet on memory, anxiety and microglia functionality in Ageing Mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 122, 167–184. <https://doi.org/10.1016/J.BB.2024.08.022>
- Volcko, K. L., Carroll, Q. E., Brakey, D. J. y Daniels, D. (2020). HIGH-FAT DIET ALTERS FLUID INTAKE WITHOUT REDUCING SENSITIVITY TO GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 RECEPTOR AGONIST EFFECTS. *Physiology & Behavior*, 221, 112910. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2020.112910>
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Koottte, R. S., Bartelsman, J. F. W. M., Dallinga-Thie, G. M., Ackermann, M. T., Serlie, M. J., Oozeer, R., Derrien, M., Druesne, A., Van Hylckama Vlieg, J. E. T., Bloks, V. W., Groen, A. K., Heilig, H. G. H. J., Zoetendal, E. G., Stroes, E. S., De Vos, W. M., ... Nieuwdorp, M. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143(4). <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2012.06.031>
- World Health Organisation. *Obesity and overweight*. (2022). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Wu, Z., Zhang, B., Chen, F., Xia, R., Zhu, D., Chen, B., Lin, A., Zheng, C., Hou, D., Li, X., Zhang, S., Chen, Y. y Hou, K. (2023). Fecal microbiota transplantation reverses insulin resistance in type 2 diabetes: A randomized, controlled, prospective study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1089991. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.1089991/FULL>
- Yarullina, D., Novoselova, V., Alexandrova, A., Arslanova, A., Yakovleva, O., Shaidullov, I., Nikolaev, Y., El-Registan, G., Kudrin, V. y Sitedikova, G. (2024). Probiotic Lactobacilli Ameliorate Antibiotic-Induced Cognitive and Behavioral Impairments in Mice. *Microbiology Research 2024, Vol. 15, Pages 1471-1485*, 15(3), 1471–1485. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES15030099>
- Yokoyama, Y., Nakamura, T. J., Yoshimoto, K., Ijuuin, H., Tachikawa, N., Oda, H., Shiraishi, R., Shinohara, K., Kumadaki, K., Honda, S., Nakamura, A., Kitamura, N., Tsubota, K. y Watanabe, M. (2020). A high-salt/high fat diet alters circadian locomotor activity and glucocorticoid synthesis in mice. *PloS One*, 15(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0233386>

DIRECTRICES PARA AUTORES/AS

Adicciones está editada por **Socidrogalcohol, Sociedad Científica Española de Estudios sobre el Alcohol, el Alcoholismo y otras Toxicomanías.**

Adicciones publica artículos originales sobre el tratamiento, la prevención, estudios básicos y descriptivos en el campo de las adicciones de cualquier tipo, procedentes de distintas disciplinas (medicina, psicología, investigación básica, investigación social, etc.). Todos los artículos son seleccionados después de pasar un proceso de revisión anónimo realizado por expertos en cada tema.

Adicciones publica 4 números al año en marzo, junio, septiembre y diciembre. La revista cuenta con cinco tipos de publicaciones: editorial, artículos originales, informes breves, artículos de revisión y cartas al director.

Con el fin de facilitar la lectura y no incurrir en posibles errores gramaticales, las referencias que en estas normas se hacen a autor y autores, revisor, revisores, editor, editores, deben entenderse hechas respectivamente a autor o autora, autores o autoras, revisor o revisora, revisores o revisoras, editor o editora, editores o editoras.

1. CONSIDERACIONES GENERALES

Idiomas

La revista admite artículos en español y en inglés para su revisión. La edición definitiva de los artículos se publicará en ambos idiomas.

Conflictos de intereses y principios éticos

La política de la revista exige que en todos los artículos y editoriales conste expresamente la existencia o no de conflicto de intereses en el apartado correspondiente. Todos los conflictos de interés son importantes, pero especial cuidado hay que poner en el caso de haber recibido para el estudio financiación de la industria farmacéutica, alcoholera, tabaquera, del juego, etc. Tener conflicto de intereses no significa no poder publicar el artículo. En caso de duda sobre esta cuestión se debe contactar con el Comité Editorial.

La revista Adicciones se ajusta en este tema a las recomendaciones y principios éticos de la ISAJE (International Society of Addiction Journals Editors): <https://www.isaje.net/ethical-guidelines.html>

Autoría y originalidad

Los artículos deben ser originales. Únicamente deben ser considerados autores aquellos que han hecho sustanciales contribuciones: 1) a la concepción y diseño, adquisición de datos, o el análisis e interpretación de datos; 2) a la redacción del artículo o a su revisión crítica; y 3) que ha dado su aprobación de la versión final que se publicará.

Todos los manuscritos serán valorados con herramientas de control del plagio. Los autores deben asegurar que ninguna parte significativa del material aportado ha sido publicado con anterioridad. En caso de duda debe aportar lo presentado o publicado en otras revistas antes de poder ser considerado el artículo para su revisión.

Además, para estas cuestiones, los autores pueden y deben consultar el acuerdo de Farmington, al que está adherida la revista Adicciones: <https://www.isaje.net/farmington-consensus.html>. También pueden consultarse las normas de publicación de la American Psychological Association, 7^a edición (2020).

2. PREPARACIÓN DE MANUSCRITOS

Los autores deben seguir exclusivamente para la presentación de sus manuscritos las Normas de publicación de la American Psychological Association, 7^a edición (2020) (www.apastyle.org).

La Revista Adicciones respeta y favorece la diversidad. Los autores deben utilizar lenguaje inclusivo que esté exento de sesgos y estereotipos. No existe un límite exacto de palabras para los trabajos que se presenten. De todos modos, toda la información que se incluya debe ser estrictamente la necesaria y se recomienda brevedad y síntesis.

Los artículos deben ser de gran interés para la comunidad científica del campo de las adicciones, suponiendo un impacto significativo en su ámbito de investigación y ofreciendo conclusiones e implicaciones claramente novedosas. Se evitarán trabajos que se refieran a realidades muy concretas o situaciones muy particulares, o que sean básicamente descriptivos —a menos, que se trate de algo muy novedoso. Se recomienda en la preparación de manuscritos seguir las guías para cada tipo de investigación en adicciones de la ISAJE: <https://www.isaje.net/reporting-guidelines.html> y de la Equator network <https://www.equator-network.org/>

Tipos de artículos

Artículos originales.

Serán preferentemente trabajos de investigación clínicos o experimentales en el campo de las adicciones. Se valorarán especialmente artículos de carácter empírico con muestras amplias y metodologías sólidas adecuadas a los objetivos perseguidos.

Artículos de revisión.

Presentarán la actualización de un tema de forma rigurosa y exhaustiva. En líneas generales, únicamente se aceptarán revisiones sistemáticas y metaanálisis. Estas revisiones deberán regirse por métodos sistematizados (p. ej., criterios PRISMA) y estar registrados en bases de protocolos de revisión (p. ej., PROSPERO).

Cartas al Editor.

Consisten en una presentación breve sobre algún área de investigación particularmente novedoso y original, o la contestación o matización a un artículo publicado en la revista. Cuando sea éste el caso la carta tendrá que recibirse dentro de las 6 semanas subsiguientes a la publicación del artículo en el número de la revista. Tendrán una extensión máxima de 800 palabras aproximadamente, 10 referencias y una tabla o figura.

3. PRESENTACIÓN DE LOS TRABAJOS

Todos los artículos se deben enviar a través de www.adicciones.es. En la plataforma se podrán encontrar todas las instrucciones para la preparación y subida del manuscrito. Todo el seguimiento del proceso de revisión y editorial se realizará a través de la plataforma web de la Revista Adicciones. Todos los autores y coautores deben estar registrados en la plataforma de la revista y sus datos de contacto (p.ej., e-mail y teléfono) deben indicarse en

el primer paso del envío para iniciar el proceso. Ésta es la única forma prevista para envío de artículos (si tiene alguna duda o problema técnico puede comunicarse con revistaadicciones@socidrogalcohol.org)

Estructura de los trabajos enviados a la revista

Para el envío de manuscritos se deben preparar y anexar los siguientes documentos:

A) *Carta de presentación o Cover Letter.* Deberá contener el objetivo del trabajo, la justificación del porqué se ha llevado a cabo y cuál es la aportación al conocimiento ya existentes, la posible audiencia a la que iría dirigido el estudio y la repercusión sobre la elaboración de posibles nuevos trabajos, así como una descripción de los principales hallazgos y la contribución de los mismos para generar nuevo conocimiento en el campo de las adicciones.

B) *Documento de autorización de todos los autores.* Todo manuscrito enviado para su consideración de publicación a la revista **Adicciones** vendrá acompañado de una carta firmada por todos los autores. En este documento se indicará que:

1. El manuscrito es original y no ha sido previamente publicado, completo o en parte, ni está siendo considerado para su publicación en otra revista.
2. La financiación que ha recibido el estudio realizado (directa o indirecta) y si tiene conexiones con la industria del tabaco, alcohol o industria farmacéutica, u otras relaciones que puedan llevar a un conflicto de intereses.
3. Que el manuscrito ha sido realizado, leído y aprobado por los autores tal como se envía el mismo, y que la autoría le corresponde a todos y todas los y las firmantes.
4. Que se han cumplido todos los principios éticos en relación a la protección de las personas o de los pacientes, o de los animales, cuando se trate de experimentación animal.
5. Que se acompañan todos los permisos correspondientes para reproducir material previamente publicado que se va a incluir en el manuscrito, como texto, tablas, figuras, etc.
6. Que la correspondencia referente al manuscrito remitido para su publicación se realizará con el autor de correspondencia del que se indicará el nombre, dirección, teléfono y correo electrónico y que éste se encargará a su vez de ponerse en contacto con el resto de autores y autoras para la revisión y aprobación final del artículo.
7. Que se transferirán los derechos de copyright del artículo a la revista Adicciones en caso de ser publicado el mismo en la revista Adicciones.
8. La revista Adicciones tiene como política la difusión de sus artículos por lo que los autores pueden enviar en formato electrónico sus artículos publicados a otras personas. La reproducción y difusión comercial de los artículos de la revista está restringida por los derechos de copyright y se precisa autorización de la revista para hacerlo.

C) *Página de título.* Se indicarán, en el orden que aquí se cita, los siguientes datos:

- Título del artículo, en minúsculas (en castellano e inglés) excepto la letra inicial.
- Nombre de autores completo (no sólo iniciales), y uno o dos apellidos del/los autor/es (p. ej., Miguel García o Miguel García Rodríguez o bien Miguel García-Rodríguez, teniendo en cuenta que la forma que hayan utilizado los autores es la que se enviará a las bases de datos). Se deben escribir en minúsculas, excepto la letra inicial. Los distintos autores vendrán separados por punto y coma. Detrás del apellido de cada autor, sin espacio intermedio

y en superíndice, deberá ir un asterisco de llamada (1 asterisco para el primero, 2 para el segundo, etc.). Estos asteriscos son necesarios para indicar en el siguiente punto la filiación de autores y autoras.

- Precedidos por un asterisco o los que fuesen necesarios –según el punto anterior– se indicarán el nombre/s del centro/s donde se ha realizado el trabajo o donde trabajan.

Al final de esta página (no como ‘nota al pie’) se colocará este texto: “Enviar correspondencia a: ...”, indicando el nombre, la dirección postal, correo electrónico u otra información del autor de correspondencia, al cual la secretaría se dirigirá durante el proceso de revisión.

D) *Manuscrito.* Todas las hojas deberán ir numeradas correlativamente en la parte superior derecha. El orden de presentación seguirá en el manuscrito será el siguiente:

1. En la primera página del manuscrito se indicará:

- Título del artículo, en minúsculas (en castellano e inglés) excepto la letra inicial.

2. La segunda hoja del artículo incluirá:

- Resumen del trabajo presentado, tanto en español como en inglés. Dicho resumen tendrá alrededor de 250 palabras. Siguiendo las normas de publicación APA, el resumen debe especificar los objetivos del estudio o investigación; una breve descripción del método utilizado; los principales resultados; y las conclusiones más importantes y/o novedosas. El resumen debe redactarse en uno o varios párrafos siguiendo las normas de publicación de la APA, **sin** necesidad de incluir referencia explícita a las divisiones de introducción, método, etc.
- Listado de entre 5 y 7 palabras clave en español y sus equivalentes en inglés (Key words) en minúsculas y separadas por comas que, a ser posible, se adapten a las normalmente utilizadas en los índices al uso (p. ej., términos MESH).

3. La tercera hoja dará inicio al texto del artículo. Dado que el proceso de revisión será anónimo, confidencial y ciego, se recomienda que los autores eliminen cualquier información que consideren pudiera ayudar a identificarlos, como por ejemplo, lugar de selección de participantes, institución de pertenencia del Comité Ético que ha aprobado el estudio, etc. Esta información puede ser ocultada mediante la sustitución de la misma por la expresión “[AUTHORS]” o similares. Se recomienda la redacción del texto en impersonal. Conviene dividir claramente los trabajos en apartados, siguiendo, siempre que sea posible por las características del estudio, el esquema general siguiente: Introducción (no obstante la palabra introducción no se pondrá, pues se da por supuesta), Método, Resultados, Discusión, Reconocimientos, Conflicto de intereses y Referencias.

Introducción.

Será breve y deberá proporcionar sólo la explicación necesaria para que el lector pueda comprender el texto que sigue a continuación. No debe contener tablas ni figuras, a menos que sean imprescindibles para la comprensión del texto. Debe incluir un último párrafo en el que se exponga de forma clara el o los objetivos del trabajo.

Método.

Se describirá claramente el método empleado (selección de la muestra, como se recogieron los datos, instrumentos de recogida de datos o de evaluación, procedimiento, etc.). Se deben identificar los instrumentos de evaluación, tratamientos, fármacos utilizados, aparatos, sistema de evaluación, pruebas estadísticas, etc. Debe especificarse el tipo de estudio (descriptivo, epidemiológico, experimental, ensayo clínico, etc.).

Todos los trabajos que se presenten deben indicar el cumplimiento de los principios éticos necesarios para llevar a cabo la investigación y la referencia del comité de ética u oficina de investigación que haya evaluado la adecuación de dichas investigaciones al marco ético y legal correspondiente.

Es importante que estudios experimentales y ensayos clínicos estén registrados y se indique el número de registro en base de ensayos (p. ej., Clinicaltrials.gov). Deben especificarse los análisis estadísticos utilizados. Cuando estos sean muy novedosos deben describirse con detalle, e indicar el paquete estadístico utilizado con la referencia oportuna. Se recomienda encarecidamente indicar, cuando sea posible, el dato de significación exacta obtenido en los resultados (frente a fórmulas como $p < .05$ o $p < .01$) así como incluir, también cuando sea posible, estadísticos del tamaño del efecto.

Resultados.

Los resultados deben presentarse en una secuencia lógica en el texto, tablas y figuras, y acorde al procedimiento descrito en el apartado del método. Se deben utilizar sólo aquellas tablas y figuras estrictamente necesarias, que expresen claramente los resultados del estudio. No se deben duplicar los datos en tablas y figuras, ni tampoco repetir en el texto todos los datos de las tablas y figuras, sólo los más importantes. Es conveniente enfatizar y resumir sólo las observaciones más importantes.

Los ensayos clínicos aleatorizados y diseños experimentales deben adecuarse a las guías CONSORT (www.consort-statement.org) y los estudios con diseños no experimentales a guías internacionales (p. ej., STROBE, <https://www.strobe-statement.org/>) para la mayor claridad de la lectura y revisión del trabajo. Igualmente, se presentarán los estadísticos del tamaño del efecto correspondiente.

Discusión.

Se debe comenzar con el objetivo general del estudio. Enfatizará los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que se derivan del mismo. No se deben repetir en detalle los resultados presentados en la sección anterior, ni en la introducción. Se ha de destacar lo más importante y controvertido y relacionarlo con otros estudios relevantes sobre el tema. No se deben presentar suposiciones si no se ven apoyadas por los datos o la evidencia previa. Cuando sea apropiado pueden incluirse recomendaciones. Se deben indicar las implicaciones de los hallazgos y las posibles limitaciones (estas preferiblemente formarán un párrafo al final del artículo).

Reconocimientos.

Este apartado se situará al final del texto del artículo y justo antes del apartado de Conflicto de intereses. Cuando se considere necesario se citará a las personas, centros o entidades que hayan colaborado o apoyado la realización del trabajo. Pueden incluirse todas aquellas personas que hayan ayudado en la preparación del artículo, pero no con la intensidad requerida para ser considerados autores. Si el trabajo ha sido financiado se indicarán las entidades financieras, convocatoria y referencia de dicha financiación, indicando si es competitiva o no.

Conflicto de intereses.

Todos los manuscritos (artículos, revisiones, editoriales, cartas) que se publican en la revista estarán acompañados por una declaración sobre los posibles o reales conflictos de interés o una declaración de que los autores no tienen conflictos de intereses que declarar.

Referencias.

Seguirán de forma estricta las Normas de publicación de la American Psychological Association, 7^a edición (2020) (www.apastyle.org).

Tablas y figuras.

Irán al final del texto, numeradas, y cada una en una página distinta, siguiendo el diseño propio de la APA. Se indicará en el texto del manuscrito en qué lugar deben ir situadas. Tanto tablas como figuras deben remitirse en formato que puedan ser modificables en el proceso de edición de los artículos.

Gestión de datos y material suplementario

Adicciones es una revista open Access, y por tanto, comprometida con la ciencia abierta. Se anima a los autores a compartir los conjuntos de datos utilizados en el trabajo de investigación y el material suplementario en repositorios institucionales o temáticos de acceso abierto, federados en la European Open Science Cloud (EOSC). Esto permitirá que los datos sean localizables, accesibles, interoperables y reutilizables de acuerdo con los principios FAIR. En el caso de contar con conjuntos de datos o materiales en algún repositorio se deben proporcionar los enlaces web a dichos archivos o datos así como los permisos y condiciones de uso de esos datos. Estos enlaces quedarán recogidos en un apartado de la revista denominado “Gestión de datos y material suplementario”. El material suplementario será revisado por el comité editorial de la revista y no podrá ser modificado una vez publicado el artículo, quedando una copia registrada en la propia revista. Los autores pueden solicitar que el material sea publicado en la plataforma de la revista también.

4. EL PROCESO DE REVISIÓN DEL MANUSCRITO

Los artículos son enviados a la revista a través de la www.adicciones.es. Los autores y resto de coautores deben registrarse en la plataforma web de la revista para poder enviar sus manuscritos. A continuación, recibirán unas claves para poder entrar en la web y revisar la situación de su artículo. No obstante, el editor de la revista enviará un mensaje cuando tenga una decisión tomada o quiera aclarar alguna cuestión. Una vez recibido el manuscrito en la Redacción de la Revista Adicciones empezará el proceso de revisión.

Todo el proceso de recepción y revisión de artículos sigue un proceso ciego controlado por el Editor jefe. El Editor puede desestimar de entrada un artículo que entienda que claramente no reúne la calidad suficiente o no entra dentro de las prioridades de la revista. El editor puede rechazar de entrada aquellos artículos que no cumplan estrictamente la normativa de la revista (APA), sin pasarlo a revisión por expertos.

Durante el proceso de envío se le solicitará a los autores que aporten el nombre de al menos dos posibles revisores para su artículo (nombre, institución, correo electrónico y ORCID). Los revisores propuestos deberán ser expertos en el tema y no estar ligados a la investigación que se desarrolla en el trabajo presentado. Tampoco podrán pertenecer al actual Comité Editorial de Adicciones. La revista se reserva la decisión de utilizar o no dichos revisores propuestos.

Los manuscritos serán enviados por el Editor a dos o más expertos en el tema (revisores), que harán los comentarios pertinentes sobre el mismo y que requerirán aquellos cambios que estimen necesarios. También pueden dar su opinión sobre la aceptación o rechazo del artículo. La última decisión, basada en el informe de los revisores, será tomada por el Editor de la revista. El proceso de revisión será “doble ciego”. En todo el proceso de revisión se mantendrá el principio de confidencialidad por parte de los revisores hacia el trabajo que revisan, así como la confidencialidad de los nombres de los revisores entre ellos o ante los autores del manuscrito. En este sentido las revisiones serán anónimas, confidenciales y ciegas también para los revisores que no conocerán el nombre de los autores en ningún momento.

El resultado de la revisión del manuscrito será enviado al autor de correspondencia indicando la decisión editorial. Los autores, si es el caso, deberán hacer los cambios señalados por editor y/o revisores, en un plazo máximo de dos meses, enviando:

- Una copia del manuscrito revisado resaltando los cambios.
- Una copia del manuscrito definitivo.
- Un documento de respuesta a revisores, donde se expongan de forma detallada las principales modificaciones efectuadas, así como sus propios comentarios sobre los principales aspectos de la revisión.

5. PROCESO DE PUBLICACIÓN

Una vez aceptado el artículo, se seguirá el siguiente proceso:

1. Se les remitirá una versión con posibles correcciones de formato y estilo, a la que deberán responder en un máximo de 10 días.
2. Una vez recibida respuesta por parte de los autores, se les informará de una estimación de las páginas que ocupará la versión final del artículo en la revista, y del coste de publicación del mismo.
3. Una vez se haya efectuado el pago, el artículo será traducido al inglés o español, dependiendo del idioma original.
4. Se generará un documento final o galerada que los autores también revisarán.
5. Se asignará un DOI al mismo y se publicará en avance online, hasta que se asignen páginas dentro de un volumen concreto en el que finalmente serán publicados los manuscritos.

En el caso de que los autores compartan sus trabajos en servidores de pre-print y post-print, en el caso de ser aceptados para su publicación en la revista Adicciones deben indicar que la versión final de dichos documentos se encuentra en la web de la revista adicciones, añadiendo el enlace que corresponda a su artículo.

Los autores son totalmente responsables de la versión final que se publique. Las opiniones vertidas en la revista Adicciones no son necesariamente las de la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas o las del Ministerio de Sanidad, ni tampoco de Socidrogalcohol. Los autores pueden hacer el uso que crean pertinente para la difusión del artículo, siempre que quede clara toda la información necesaria acerca de la revista donde ha sido publicado. En el caso, de que los autores quisieran proponer alguna modificación o rectificación, una vez publicados los artículos deben comunicarlo a la dirección de la revista. Además, la revista se reserva el derecho a aceptar dichos cambios o a retirar cualquier publicación que pudiese contener información errónea o fruto de mala conducta investigadora.

Costes de publicación

La Revista Adicciones es *Open Access*, es decir, de acceso abierto, por lo que una vez publicados los artículos estarán disponibles a través de la web y las distintas plataformas de búsqueda de forma gratuita, pudiendo ser enviados y compartidos a toda la comunidad científica. Esto supone que se deben cubrir una serie de gastos de edición, maquetación y derechos de difusión que conllevan asociados unos costes para los autores de los manuscritos. El proceso de publicación Open Access cumple con los requisitos y recomendaciones establecidos por las convocatorias de financiación científica más actuales como la Horizon 2020 y la Ley de Ciencia del Ministerio de Ciencia e Innovación de España, que promueven el acceso abierto a la ciencia.

La publicación de nuevos artículos está sujeta al pago de 50€ (IVA incluido) por página, con un descuento del 30% si el primer autor es socio de Socidrogalcohol. Para los casos en los que al menos un 50% de los autores pertenezcan a países en desarrollo según [World Bank](#), se aplicará un descuento del 50%. Excepcionalmente, si existen dificultades graves de financiación y ante artículos de gran calidad, se podrá negociar una tarifa de publicación.

6. COPYRIGHT

Los derechos de copyright de todos los artículos publicados en la revista Adicciones pasan a ser propiedad de la revista.

Los manuscritos podrán ser enviados y formar parte de repositorios públicos e institucionales siempre y cuando incluyan el enlace al manuscrito publicado en la revista, la correcta referencia y se solicite al Editor el permiso.

Los autores se comprometen a acompañar el manuscrito de todos los permisos correspondientes para reproducir material previamente publicado que se va a incluir en el manuscrito, como texto, tablas, figuras, etc.

Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.

EDITORIAL**Enredados en la adicción**

Entangled in addiction

MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS, MARTA TORRENS MELICH 295

ORIGINALES / ORIGINALS**La influencia de los factores de sexo y género en la modulación de la vulnerabilidad a las adicciones: Una revisión narrativa**

The influence of sex and gender factors on the modulation of vulnerability to addictions: A narrative review

CRISTINA RIUS, RUT LUCAS-DOMINGUEZ, JUDIT TIRADO-MUÑOZ, LYDIA GARCIA- GOMEZ, LAURA PRIETO-ARENAS, ANTONIO VIDAL-INFER 297

Isoflavonas de soja para el tratamiento del trastorno por consumo de cocaína: Un estudio piloto abierto

Soy isoflavones for the treatment of cocaine use disorder: An open-label pilot study

ROSER MARTÍNEZ-RIERA, FRANCINA FONSECA, RAFAEL DE LA TORRE, NIEVES PIZARRO, LILIANA GALINDO, JOAN IGNASI MESTRE-PINTÓ, MAGÍ FARRÉ, MARTA TORRENS 311

Bloqueo del incremento en los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por la derrota social: Efecto de la comida palatable

Blocking the increased reinforcing effects of cocaine induced by social defeat: Effects of palatable food

FRANCISCO RÓDENAS-GONZÁLEZ, MARÍA DEL CARMEN BLANCO-GANDÍA, EZEQUIEL MONFERRER, MARÍA PASCUAL, MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS 323

Efectos de los ácidos grasos omega-3 sobre la localización del receptor cannabinoid CB1 en la región CA1 del hipocampo tras la abstinencia de alcohol en ratones machos adolescentes

Effects of omega-3 fatty acids on CB1 cannabinoid receptor localization in the hippocampal

CA1 region following alcohol withdrawal in adolescent male mice

MAITANE SERRANO, LEIRE LEKUNBERRI, GARAZI OCERIN, MIQUEL SAUMELL-ESNAOLA, GONTZAL GARCÍA DEL CAÑO, NAGORE PUENTE, ITZIAR BONILLA-DEL RÍO, INMACULADA GERRIKAGOITIA, PEDRO GRANDES 341

Diferencias sexuales en tareas emocionales y cognitivas en ratas expuestas a atracones de alcohol y en controles durante la adultez temprana

Sex differences in emotional and cognitive tasks in rats exposed to alcohol binges and controls during early adulthood

LETICIA LÓPEZ-VALENCIA, EVA BONILLA, BERTA ESCUDERO, LAURA ORIO 353

El historial previo de estrés modula los cambios transcripcionales inducidos por alcohol en la adolescencia en las vías glutamatérgicas y endocannabinoides del estriado

Prior stress history shapes adolescent alcohol-induced transcriptional changes in striatal glutamatergic and endocannabinoid pathways

LAURA SÁNCHEZ-MARÍN, BERKE CANOLUK, JULIA VERHEUL-CAMPOS, ANA L. GAVITO, RAQUEL REVIRIEGO, FRANCISCO J. PAVÓN-MORÓN, ANTONIA SERRANO, FERNANDO RODRÍGUEZ DE FONSECA 369

Estudio de la ruta neurotrófica Pleiotrofina/PTPRZ en el hipocampo de ratas expuestas a consumo crónico de alcohol y/o deficiencia de tiamina

Study of the Pleiotrophin/PTPRZ neurotrophic pathway in the hippocampus of rats exposed to chronic alcohol consumption and/or thiamine deficiency

ROSARIO LÓPEZ-RODRÍGUEZ, MARTA MOYA, ESTHER GRAMAGE, GONZALO HERRADÓN, LAURA ORIO 383

Pérdida del control de la ingesta alimentaria y flexibilidad cognitiva: Participación de la microbiota intestinal

Loss of eating control and cognitive flexibility: Involvement of gut microbiota

SOLVEIGA SAMULÉNAITÉ, AURELIJUS BUROKAS, JOSÉ MANUEL FERNÁNDEZ-REAL, JORDI MAYNERIS-PERXACHS, ELENA MARTÍN-GARCÍA, RAFAEL MALDONADO 395

