Instituto Universitario de Investigación Neuroquímica

# II Reunión científica IUIN

16 Septiembre 2022

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID

***Recogida de documentación y acreditación desde las 9:00 de la mañana en la entrada del aula profesor Botella.***

| **SESIÓN I: Fisiología del sistema nervioso**<br>**Moderadora: Elisa Navarro** | |
|---|---|
| **9:30 - 9:40** | **PRESENTACIÓN DE LA JORNADA**<br>**(Sala Profesor Botella - 1ª planta-Facultad de Medicina)**<br>Eva de Lago y Onintza Sagredo |
| **9:40 - 9:55** | **O1**<br>**EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE LA SEÑALIZACIÓN PURINÉRGICA SOBRE EL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA**<br>María Benito León, Julia Serrano, Marina Arribas, Luis Olivos, Raquel Pérez- Sen, Esmerilda G. Delicado, Antonio R. Artalejo, Rosa Gómez Villafuertes y Felipe Ortega. |
| **9:55 - 10:55** | **PONENCIA INVITADA**<br>**"EL COMPORTAMIENTO PLÁSTICO DE LAS CÉLULAS MADRE DEL CEREBRO ADULTO"**<br>Isabel Fariñas, Universidad de Valencia. |
| **10:55 - 11:10** | **O2**<br>**EMBRYONIC CANNABINOID CB1 RECEPTOR KNOCKDOWN ALTERS THE NEUROGENIC GENE EXPRESSION PROGRAM AND FUNCTIONAL MATURATION OF PYRAMIDAL NEURONS**<br>Samuel Simón Sánchez, Daniel García Rincón, Femke den Boon, Georgia Skrempou, Juan Paraíso Luna, Manuel Guzmán, Pascal Chameau e Ismael Galve Roperh. |
| **11:10 - 11:25** | **O3**<br>**CB1 CANNABINOID RECEPTORS ARE ESSENTIAL FOR OLIGODENDROCYTE PROGENITOR CELL DIFFERENTIATION DURING POSTNATAL MYELINATION**<br>Aníbal Sánchez de la Torre, Tania Aguado, Alba Huerga-Gómez, Silvia Santamaría, Antonietta Gentile, Juan Carlos Chara, Carlos Matute, Krisztina Monory, Susana Mato, Manuel Guzmán, Beat Lutz, Ismael Galve-Roperh y Javier Palazuelos. |
| **11:25 - 12:00** | **COFFEE BREAK (cafetería de la Facultad de Medicina)** |
| **12:00 – 13:00** | **SESIÓN DE PÓSTER (Hall de la 3ª planta)** |

| SESIÓN II: Fisiología del sistema nervioso<br>Moderador: Ricardo Martín | |
|---|---|
| 13:00 - 13:15 | **O4**<br>**RO 61-8048 COMO TRATAMIENTO EFECTIVO EN LAS DIFERENTES FASES DE LA CONDUCTA ADICTIVA INDUCIDA POR FENTANILO**<br>Lluna Careaga Heres, Carlos Núñez de la Calle, Stefanie Malan-Müller, Rebeca Vidal Casado, Leticia Gil de Biedma Elduayen, Nuria Morales Puerto, Mª Dolores Gutiérrez López, Mª Esther O'Shea Gaya y Mª Isabel Colado Megia. |
| 13:15 - 13:30 | **O5**<br>**GAP43 CONTROLS NOVELTY-INDUCED HYPERLOCOMOTION**<br>Irene Berenice Maroto, C. Costas-Insua, C. Montero, A. Hermoso-López, I. Rodríguez-Crespo, L. Belloccio y M. Guzmán. |
| 13:30 - 13:45 | **O6**<br>**MODULACIÓN BIMODAL Y ACCIÓN ANTI-EPILÉPTICA DEL RECEPTOR MGLU7**<br>Alberto Samuel, Suárez Pinilla, José Sánchez-Prieto, Magdalena Torres y Ricardo Martín. |
| 13:45 - 14:00 | **O7**<br>**LOS RECEPTORES alfa2 ADRENÉRGICOS REGULAN LA SECRECIÓN DE CATECOLAMINAS EN LAS CÉLULAS CROMAFINES DE ANIMALES CON DOLOR NEUROPÁTICO MEDIANTE LA MODULACIÓN DE CANALES Cav DE BAJO UMBRAL DE ACTIVACIÓN**<br>Emma Jiménez, Marina Arribas-Blázquez, Luis Alcides Olivos-Oré, M.ª Victoria Barahona Gomáriz, Celia Llorente Sáez y Antonio Rodríguez Artalejo. |
| 14:00 - 14:15 | **O8**<br>**PAPEL DEL RECEPTOR DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHÉIMER**<br>Carmen Nieto, Cuartero MI., García-Culebras A., Sacristán S., Bravo-Ferrer I., Hurtado O., Lizasoain I. y Moro M.A. |
| 14:15 - 15:15 | **COMIDA (Cafetería de la Facultad de Medicina)** |
| 15:15 - 16:00 | **FACE TO FACE (Hall de la 1ª planta)** |
| 16:00 - 16:15 | **09**<br>**A NOVEL ANTAGONIST OF THE TYPE 2 LYSOPHOSPHATIDIC ACID RECEPTOR (LPA2), UCM-14216, AMELIORATES SPINAL CORD INJURY**<br>Henar Vázquez, Debora Zian, Nora Khiar, Román Foronda, Manisha Ray, María Puigdomenech-Poch, Giovanni Cincilla, Melchor Sánchez-Martínez, Yasuyuki Kihara, Jerold Chun, Rubén López-Vales, María L. López-Rodríguez y Silvia Ortega-Gutiérrez. |

| SESIÓN III: Patología (neurodegenerativa/psiquiátrica) del sistema nervioso<br>Moderadora: Carmen Rodríguez Cueto | |
|---|---|
| 16:15 - 16:30 | **O10**<br>**PRECLINICAL EVALUATION OF CK-1δ AND TTBK1 INHIBITORS IN A TDP-43- RELATED FRONTOTEMPORAL DEMENTIA MOUSE MODEL**<br>Claudia Consuegra, Adrián Parrilla Mesas, Carmen Rodríguez Cueto, Loreto Martínez-González, Javier Fernández-Ruiz, Carmen Gil, Ana Martínez y Eva de Lago |
| 16:30 - 16:45 | **O11**<br>**EFECTO DEL POLIMORFISMO ARG244GLN DE DNASA1 EN EL ICTUS ISQUÉMICO**<br>Blanca Diaz Benito, Moraga A., Alzamora Ll., Peña-Martínez C, Ruiz-García A., Ostos F., Martínez-Salio A., Moro M.A., Lizasoain I. |
| 16:45 - 17:00 | **O12**<br>**PUESTA A PUNTO DE UN ALGORITMO MOLECULAR DIAGNÓSTICO EN LOS PACIENTES DE ELA Y DFT**<br>Borrego-Hernández D., Martín-Hondarza Ríos A., Lucas-Gómez B., Cordero- Vázquez P., Herrero-Manso M.C., Villarejo-Galende A., Llamas-Velasco S., González-Sánchez M., Herrero-Sanmartín A., Juárez-Rufián A., García- Salamero G., Martín-Casanueva M.A., Esteban-Pérez J. y García-Redondo A. |
| 17:00 - 17:15 | **O13**<br>**DISFUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA EN UN MODELO PRECLÍNICO COMBINADO DE PERIODONTITIS Y DEPRESIÓN EN RATAS. PAPEL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA ESFINGOSINA-1-FOSFATO**<br>Marina Muñoz-López, Javier Robledo-Montaña, Borja García-Bueno, Juan Carlos Leza, David Martín-Hernández. |
| 17:15 - 17:30 | **O14**<br>**ALTERACIONES DE LA AUTOFAGIA Y LA MITOFAGIA EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATAS EXPUESTAS A UN MODELO EXPERIMENTAL DE DEPRESIÓN**<br>Cristina Ulecia Morón, Álvaro G. Bris, Karina MacDowell, Beatriz Moreno, Juan Carlos Leza y Javier R. Caso. |
| 17:30-17:45 | **O15**<br>**ESTUDIO DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA RESPUESTA A PROTEÍNAS DESPLEGADAS (UPR) EN LA CORTEZA FRONTAL DE UN MODELO DOBLE-HIT DE NEURODESARROLLO EN RATA**<br>Álvaro G. Bris, Cristina Ulecia-Morón, Karina S. MacDowell, Mónica Movilla-Pérez, Beatriz Moreno, Javier. R. Caso, Juan Carlos Leza |
| 17:45-18.00 | **CLAUSURA Y ENTREGA DE PREMIOS** |

## SESIÓN PÓSTER

**P1**

**EFECTO DE LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA DE TIPO 3 O ENFERMEDAD DE MACHADO-JOSEPH SOBRE LA MORFOGÉNESIS TEMPRANA DEL CEREBELO.**

Celia Llorente, Nagore Hernández, Marina Arribas, Rosa Gómez Villafuertes, Luis Olivos, Raquel Pérez-Sen, Esmerilda G Delicado, Antonio R Artalejo, Felipe Ortega.

**P2**

**ADULT NEUROGENIC NICHES ACTIVATION IN RESPONSE TO CORTICAL NEURODEGENERATION. EFFECT OF PURINERGIC SIGNALING ON NEUROPROTECTION AND BRAIN REPAIR.** Julia Serrano, Lucia Paniagua Herranz, María Benito, Celia Llorente, Yaiza Trueba, Eva de Lago, Rosa Gómez Villafuertes, Maria Gómez Ruiz, Javier Fernández Ruiz, Raquel Pérez-Sen, Esmerilda G Delicado, Felipe Ortega.

**P3**

**INFLAMMASOME GENES EXPRESSION AS BIOMARKERS IN ALS AND FTD PATIENTS.** Expósito-Blázquez L, Borrego-Hernández D, Calvo A.C, Herrero- Manso M.C, Cordero-Vázquez P., Villarejo-Galende, A., Llamas-Velasco S., González-Sánchez, M., Martín-Casanueva, M.A., Esteban-Pérez, J., Osta, R. and García-Redondo, A.

**P4**

**UBIQUITINATION OF CANNABINOID CB1 RECEPTOR.**

Alicia Álvaro-Blázquez, Carlos Costas-Insua, Alba Hermoso-López, Carlos Montero-Fernández, Ignacio Rodríguez-Crespo, Manuel Guzmán

**P5**

**DETECCIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DEL DAÑO EN LA BARRERA INTESTINAL Y LA TRANSLOCACIÓN BACTERIANA TRAS UN ICTUS ISQUÉMICO. EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y EL DAÑO CEREBRAL.**

Cristina Granados-Martínez, Alzamora Lluís, Alfageme Nuria, Fernández-Valle María Encarnación, Castejón David, Sevillano David, Alou Luis, Calleja-Castano, Patricia, García-Segura Juan Manuel, Moro María Ángeles, Lizasoain Ignacio, Pradillo Jesús Miguel.

**P6**

**MECHANISMS OF POST-STROKE COGNITIVE IMPAIRMENT: HIPPOCAMPAL ALTERATIONS.**

Torres-López C, Cuartero MI , De la Parra J, García-Culebras A, Jareño-Flores T, Benito M, Castejón D, Fernández-Valle E, Fraga-E, Villatoro- González P, García-Segura JM, Lizasoain I, Moro MA.

**P7**

**EFFECT OF NEUTROPHIL CIRCADIAN RHYTMS IN ISCHEMIC STROKE.**

Sandra Vázquez-Reyes, María Isabel Cuartero, Alicia García-Culebras, Francisco Javier Castro-Millán, Andrea Rubio-Ponce, Tania Jareño-Flores, Marcos Galán- Ganga, Jorge Hernández-Matarazzo, Andrés Hidalgo-Alonso, Ignacio Lizasoain and María Ángeles Moro.

**P8**

**CB1R AS A POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET INCRBN DEFICIENCY-ASSOCIATED MENTAL RETARDATION.**

Alba Hermoso-López, Carlos Costas- Insua, Estefanía Moreno, Alicia Álvaro- Blázquez, David Martín-Gutiérrez, Irene B. Maroto-Martínez, Carlos Montero- Fernández, Rebeca Diez-Alarcia, Leyre Urigüen, Vicent Casadó, Ignacio Rodríguez-Crespo, Manuel Guzmán.

**P9**

**EFECTO NEUROPROTECTOR DE LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR CB1 EN UN MODELO MURINO DE DEMENCIA FRONTOTEMPORAL (TDP-43-DFT).**

Raquel Martín Baquero, Laura García Toscano, Claudia Gonzalo-Consuegra, Carmen Rodríguez Cueto, Javier Fernández Ruiz, Eva de Lago.

**P10**

**INVESTIGATION OF NEW TARGETS FOR DEVELOPING A CANNABINOID- BASED NEUROPROTECTIVE THERAPY IN PARKINSON'S DISEASE.**

Santiago Rodríguez-Carreiro, Elisa Navarro, María Gómez-Cañas, Concepción García, Javier Fernández-Ruiz.

**P11**

**ESTUDIO DEL PROCESO DE MIELINIZACIÓN EN UN MODELO MURINO DE SÍNDROME DE DRAVET.**

Álvaro Sierra, Valentina Satta, Inés Hernández, Javier Fernández Ruiz, Onintza Sagredo.

**P12**

**CHARACTERIZATION OF THE PHOSPHORYLATION OF CANNABINOID CB1 RECEPTOR.**

Guillermo Martín Migallón, David de la Cruz Domínguez, Raquel García Martín, Carlos Costas Insua, Ignacio Álvarez Calles, J. Ignacio Rodríguez- Crespo & Manuel Guzmán Pastor.

**P13**

**EL PAPEL DE LA MICROGLÍA Y LA VÍA DE LA ESFINGOSINA-1-FOSFATO EN LA NEUROINFLAMACIÓN. RESULTADOS DE UN MODELO PRECLÍNICO IN VIVO DE PERIODONTITIS Y DEPRESIÓN.**

Javier Robledo-Montaña, Marina Muñoz- López, David Martín Hernández, Juan Carlos Leza, Borja García-Bueno.

**P14**

**ESTUDIO PRECLÍNICO DEL PAPEL DEL RECEPTOR CB2 CENTRAL Y PERIFÉRICO EN EL MODELO MURINO DE ELA SOD1 (G93A).** Marta Gómez Almería, Carmen Rodríguez Cueto, Javier Fernández Ruiz, Eva de Lago.

## COMUNICACIONES ORALES

**O1**

**EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DE LA SEÑALIZACIÓN PURINÉRGICA SOBRE EL DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA**

*María Benito León, Julia Serrano, Marina Arribas, Luis Olivos, Raquel Perez-Sen, Esmerilda G Delicado, Antonio R Artalejo, Rosa Gomez Villafuertes, Felipe Ortega*

El modelo de cultivo de organoides cerebrales humanos a partir de células pluripotentes inducidas es, actualmente, uno de los mejores sistemas para el estudio de los mecanismos que regulan la formación de la corteza cerebral humana. Este proceso que ocurre durante las etapas tempranas del desarrollo embrionario es clave y su desregulación puede llevar a la formación de patologías severas, como la microcefalia o la lisencefalia, entre otras, o bien producir efectos más sutiles que pueden conducir al desencadenamiento de patología neurológicas a lo largo de la vida del individuo como la esquizofrenia, autismo o trastorno bipolar. Hemos utilizado este modelo para estudiar la expresión, distribución y funcionalidad de los distintos componentes del sistema purinérgico a lo largo de las primeras etapas de formación de la corteza cerebral humana. El sistema purinérgico, es uno de los sistemas de comunicación célula-célula más antiguos evolutivamente y tiene un papel regulador clave en distintas funciones dentro de la formación y homeostasis del sistema nervioso central. Empleando el modelo de organoides hemos identificado los distintos receptores purinérgicos ionotrópicos (P2X) y metabotrópicos (P2Y) que se encuentran expresados en las distintas poblaciones celulares que pueblan las diferentes etapas de los organoides en formación. Asimismo, hemos comprobado mediante técnicas de electrofisiología que estos receptores son funcionales y hemos ensayado distintos antagonistas de dichos receptores para evaluar su papel regulador sobre la correcta formación de las estructuras corticales humanas.

**O2**

**EMBRYONIC CANNABINOID CB1 RECEPTOR KNOCKDOWN ALTERS THE NEUROGENIC GENE EXPRESSION PROGRAM AND FUNCTIONAL MATURATION OF PYRAMIDAL NEURONS**

*Samuel Simón Sánchez[1, 2], Daniel García Rincón[1, 2], Femke den Boon[3], Georgia Skrempou[3], Juan Paraíso Luna[1, 2], Manuel Guzmán[1, 2], Pascal Chameau[3], Ismael Galve Roperh[1, 2]*

*1.Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España*
*2.Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS) e Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (IUIN), Madrid, España.*
*3. Swammerdam Institute for Life Sciences, Center for Neuroscience, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands.*

During embryonic development, a series of proliferation waves of neural stem and progenitor cells occur in a tight space and time orchestrated manner. Progressive changes in the neurogenic program determine the specific differentiation, migration and neuronal maturation that define the different projection neuronal populations characteristics of upper and deep cortical layers (Kawaguchi A., 2019). The endocannabinoid system via CB1 cannabinoid receptors regulates crucial steps of neurogenesis and hence disturbances by genetic alterations or exogenous prenatal cannabinoid exposure leads to alterations of long-range projection neurons (de Salas-Quiroga et al., 2015; Díaz-Alonso et al., 2017), and can contribute to developmental epilepsy and focal malformations. Acute prenatal silencing of CB1 cannabinoid receptors interferes the multipolar-bipolar neuronal transition required for radial migration, leads to ectopic delayed neurons with features resembling subcortical band heterotopias and increased seizure susceptibility in adulthood. Also, CB1 receptor signaling regulates BCL11b/SATB2 transcription factor balance, favoring deep layer subcortical and subcerebral projection neuron development (Paraíso-Luna et al., 2020). To dissect the precise consequences of embryonic CB1 receptors in deep layer neuronal development, we performed gene expression, electrophysiological patch clamp and behavioral analyses at different developmental times after electroporation of siCB1 and siControl constructs (E14.5 mouse embryos). FACS-sorting of GFP+ cells and microarray studies revealed changes in gene expression neurogenic program with conserved features of the described changes in autism spectrum disorder and intellectual disability. Neurons that migrated incorrectly were characterized by an altered firing pattern and less excitability compared to the control (L56 siCB1 neurons have smaller sag and lower firing rate compared to native L56 neurons). Finally, because of CB1 receptor embryonic ablation, changes in general motor activity, social interaction and hiperexcitability were found. Together, these findings expand the knowledge of neurodevelopmental changes induced by prenatal interference with CB1 receptor signaling (in neurogenic gene expression program and neuronal maturation) that are essential for the understanding of the contribution of endocannabinoid signaling in neuropsychiatric and developmental epileptic disorders.

**O3**

## CB1 CANNABINOID RECEPTORS ARE ESSENTIAL FOR OLIGODENDROCYTE PROGENITOR CELL DIFFERENTIATION DURING POSTNATAL MYELINATION

*Aníbal Sánchez de la Torre [1,2,3#], Tania Aguado[1,2,3#], Alba Huerga-Gómez[1,2,3], Silvia Santamaría[1,2,3], Antonietta Gentile[4], Juan Carlos Chara2,5,6, Carlos Matute2,5,6, Krisztina Monory[4], Susana Mato[2,5,6], Manuel Guzmán[1,2,3], Beat Lutz[4], Ismael Galve-Roperh[1,2,3] & Javier Palazuelos[1,2,3*]*

*1.Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), 28034, Madrid, Spain;*
*Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), 28049, Madrid, Spain;*
*2.Department of Biochemistry and Molecular Biology, Complutense University, Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (IUIN), 28040, Madrid, Spain;*
*3.Institute of Physiological Chemistry, University Medical Center Mainz, 55128 Mainz, Germany.*
*4.Department of Neurosciences, University of the Basque Country UPV/EHU*
*5.Achucarro Basque Center for Neuroscience, 48940, Leioa, Spain;*
*6.Biocruces, 48903, Bizkaia, Spain. # Equally contributing authors*

Several pharmalogical studies have shown that synthetic cannabinoids, phytocannabinoids, and endocannabinoids modulate oligodendrogenesis and central nervous system (CNS) myelination. However, due to the abundant expression of CB1 cannabinoid receptors in various neuronal and glial cell populations, the cell-autonomous action of cannabinoid compounds on oligodendroglia, as well as the molecular mechanisms underlying these effects, have not yet been studied in vivo.

In this study, by using different genetic mouse models, we show that CB1 cannabinoid receptors exert an essential role in modulating oligodendrocyte development at the critical periods of postnatal myelination. We found that selective genetic inactivation of CB1 receptors in oligodendrocyte precursor cells (OPCs) in vivo disrupts oligodendrogenesis and postnatal myelination by altering the RhoA/ROCK signaling pathway, leading to hypomyelination and behavioral alterations. Contrarily, pharmacological CB1 receptor activation, by inducing RhoA ubiquitination and proteasomal degradation, promotes oligodendrocyte differentiation and CNS myelination, an effect that is absent in OPC- specific CB1 receptor-deficient mice. In addition, pharmacological inactivation of ROCK in vivo overcomes the defects in oligodendrogenesis and functional CNS myelination found in OPC-specific CB1 receptor-deficient mice. In summary, this study supports a cell-autonomous role for CB1 receptors in modulating OPC differentiation in vivo, which may have a profound impact on the scientific knowledge and therapeutic manipulation of CNS myelination by cannabinoids.

**04**

**RO 61-8048 COMO TRATAMIENTO EFECTIVO EN LAS DIFERENTES FASES DE LA CONDUCTA ADICTIVA INDUCIDA POR FENTANILO**

*Lluna Careaga Heres*[*1,2,3,4], Carlos Núñez de la Calle*[*1,2,3,4], Stefanie Malan-Müller[1,2,3,4], Rebeca Vidal Casado[1,2,3,4], Leticia Gil de Biedma Elduayen[1,2,3,4], Nuria Morales Puerto[1,2,3,4], Mª Dolores Gutiérrez Lopez[1,2,3,4], Mª Esther O'Shea Gaya[1,2,3,4], Mª Isabel Colado Megia[1,2,3,4]*

*1.Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Pza. Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid.*
*2.Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre, 28041 Madrid.*
*3.Red de Trastornos Adictivos del Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid.*
*4.Instituto Universitario de Investigación Neuroquímica, Universidad Complutense, 28040 Madrid*

**Introducción**

Los opioides como el fentanilo son eficaces analgésicos utilizados en la terapéutica del dolor. El marcado incremento en el consumo de estos fármacos, al margen de su uso terapéutico y el abuso, son motivos de preocupación para las autoridades sanitarias.

El conocimiento de los mecanismos moleculares que subyacen al desarrollo de la dependencia a los opioides y el desarrollo de alternativas para disminuir el abuso de estos fármacos se ha convertido en un tema prioritario de salud pública.

Recientemente, se ha identificado a la vía de kinurenina como una diana novedosa para modular el abuso de las drogas, su búsqueda y la recaída en su consumo.

**Materiales y métodos**

Ratas macho adultas Long Evans fueron sometidas a la cateterización quirúrgica de la vena yugular externa derecha. Se llevó a cabo un modelo de autoadministración intravenosa de fentanilo y se evaluó el efecto del pretratamiento con el inhibidor de kinurenina monooxigenasa, Ro 61-8048, en la adquisición, mantenimiento, extinción y reinstauración de la conducta adictiva. Se cuantificaron los niveles de kinurenina en plasma e hipocampo.

**Resultados**

El pretratamiento con Ro 61-8048 redujo el comportamiento de búsqueda de la droga en todas las etapas estudiadas: dificultó la adquisición, redujo el consumo en la etapa de mantenimiento, facilitó la extinción y previno su reinstauración cuando esta fue inducida por una nueva exposición al fentanilo o a los estímulos asociadas al mismo. Ro 61-8048 produjo un incremento en las concentraciones de kinurenina en plasma e hipocampo.

**Conclusiones**

Estos hallazgos muestran por primera vez que la manipulación de la vía de la kinurenina mediante Ro 61-8048 es una estrategia eficaz para tratar en diferentes fases, la conducta adictiva inducida por fentanilo en ratas. Así, se propone a Ro 61-8048 como un agente innovador y prometedor en el manejo clínico de la dependencia a opioides.

**05**

**GAP43 CONTROLS NOVELTY-INDUCED HYPERLOCOMOTION**

*Irene Berenice Maroto[1], C. Costas-Insua[1], C. Montero[1], A. Hermoso-López[1], I. Rodríguez-Crespo[1], L. Bellochio[2] & M. Guzmán[1]*

*1. Universidad Complutense de Madrid. CIBERNED, IUIN e IRYCIS. Spain.*
*2.INSERM,Bordeaux. France.*

Growth-associated protein 43 (GAP43) is a key cytoskeletal-associated component of the presynaptic terminal. Upon activation by PKC-mediated phosphorylation, it contributes to axonal growth during brain development, as well as to nerve regeneration, vesicular recycling and neuronal plasticity in the adult brain. Homozygous GAP43 knocking out in mice disrupts axonal pathfinding and is lethal shortly after birth, while heterozygous GAP43 knocking out leads to memory impairments and connectivity-related, autistic-like affections. However, little is known about the role of GAP43 in different neuronal populations and the precise mechanisms in excitatory *vs.* inhibitory inputs that may underlie those phenotypes. We have generated GAP43-floxed mice and, subsequently, conditional GAP43-knockout mice specifically in telencephalic glutamatergic neurons (Glu-GAP43-/- mice) or forebrain GABAergic neurons (GABA-GAP43 /- mice) by Cre-LoxP recombination. Compared to their WT littermates, Glu-GAP43-/- mice showed a striking hyperactivity in a novel environment, associated to an impaired performance in the Y-maze and novel object recognition tests, that was not observed in GABA-GAP43-/- animals. In addition, Glu-GAP43 /- mice showed unaltered home-cage spontaneous activity and anxiety-like behaviors. These motor activity alterations in Glu-GAP43 -/- mice were associated with an increased neuronal activation (as assessed by c-Fos staining) after exposure to a novel open field compared to their WT littermates in various brain areas. Moreover, open field locomotor hyperactivity in Glu-GAP43-/- mice was blocked by treatment with the dopamine D1 receptor-selective antagonist SCH23390. Future experiments will explore the altered circuitry and the underlying neuronal mechanisms that may involve glutamate and dopamine signaling in this setting. Taken together, these findings provide a robust behavioral phenotype reliant on a growth associated protein in glutamatergic neurons and suggest that Glu-GAP43-/- mice may constitute a useful tool for studying novelty-induced hyperactivity, thus mimicking some phenotypic abnormalities found in schizophrenia or attention deficit hyperactivity disorder.

**O6**

**MODULACIÓN BIMODAL Y ACCIÓN ANTI-EPILÉPTICA DEL RECEPTOR MGLU7**

*AS. Suárez Pinilla[1,2], J. Sánchez-Prieto[1,2], M Torres[1,2], R. Martín[1,2]*

*1.Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain*
*2.Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos, 28040 Madrid, Spain*

mGluR7 es un receptor de glutamato localizado en la zona activa presináptica que activa proteínas G para modular la liberación de este neurotransmisor. La activación breve del receptor con un agonista exógeno como L-AP4, activa proteínas Gi/o y reduce la liberación de glutamato por inhibición de canales de Ca2+. Sin embargo, trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que tanto la exposición prolongada a L-AP4 como la activación endógena de este receptor por glutamato liberado sinápticamente potencia la transmisión sináptica entre las colaterales de Schaffer y las células piramidales de CA1. Esta respuesta implica la activación de proteínas G resistentes a toxina Pertussis que promoverán la síntesis de DAG por la fosfolipasa C y que finalmente activará a Munc13 -2, una proteína que moviliza vesículas sinápticas a la zona activa. Por tanto, estos datos cuestionan que la acción antiepiléptica de mGluR7 sea debida a su capacidad para inhibir la transmisión sináptica excitadora. Dado que mGluR7 se expresa también en los botones sinápticos GABAérgicos, hemos estudiado si estos receptores potencian también la liberación de GABA.
Los resultados muestran que LAP4 primero reduce y después aumenta la amplitud de los IPSCs por acción directa sobre receptores mGluR7 localizados en terminales GABAérgicos. La fase inhibidora del IPSC es sensible al bloqueante de proteínas Gi/o, toxina Pertussis, mientras que la fase de potenciación del IPSC es sensible al inhibidor de la unión de DAG Calfostina C. También hemos encontrado que la estimulación endógena del receptor resulta en una potenciación neta del IPSC ya que, aunque la inhibición y la potenciación se producen simultáneamente, la potenciación es de mayor amplitud y duración, que la inhibición. Por lo que la acción antiepiléptica del receptor mGluR7 podría radicar en su capacidad para potenciar la liberación de GABA.
Financiación: BFU2017- 83292-R y PID2020-114030RB-I00 (MICINN) B2017/BMB-3699 (Comunidad de Madrid)

**O7**

**LOS RECEPTORES alfa2 ADRENÉRGICOS REGULAN LA SECRECIÓN DE CATECOLAMINAS EN LAS CÉLULAS CROMAFINES DE ANIMALES CON DOLOR NEUROPÁTICO MEDIANTE LA MODULACIÓN DE CANALES Cav DE BAJO UMBRAL DE ACTIVACIÓN**

*Emma Jiménez Burqueño[1], Marina Arribas-Blázquez[1], Luis Alcides Olivos-Oré[1], Mª Victoria Barahona Gomariz[1], Celia Llorente Sáez[1], Antonio R. Artalejo[1]*

*1.Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica y Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid, España*

La médula adrenal de ratas con dolor neuropático inducido por la constricción crónica del nervio ciático (CCI) experimenta una profunda remodelación morfofuncional conducente al aumento de la liberación de catecolaminas a la circulación sanguínea.
La esplacnectomía o la administración de SK29661, un inhibidor de la síntesis de adrenalina, revierten la alodinia mecánica en estos animales, lo que implica a la médula adrenal en la fisiopatología del dolor neuropático (1, 2) Así mismo, la administración de MPV2426 (300 µg/kg), un agonista selectivo de los receptores α2 adrenérgicos periféricos, también revierte la alodinia mecánica en los animales CCI.
Dado que las células cromafines de la médula adrenal expresan adrenoceptores α2 inhibidores de la secreción de catecolaminas y potencialmente implicados en el efecto antinociceptivo de MPV2426, en este trabajo hemos caracterizado el efecto de este compuesto sobre las células cromafines de la médula adrenal. Los principales resultados son los siguientes: i) MPV2426 (100 nM) inhibe la entrada de Ca2+ a través de canales Cav de alto umbral de activación (HVA) en células cromafines de animales control, y a través de canales Cav HVA y canales Cav de bajo umbral de activación (LVA) en células cromafines de animales CCI; ii) MPV2426 (100 nM) carece de efecto sobre las corrientes iónicas a través de receptores nicotínicos activados por acetilcolina (ACh, 100 µM) y oxotremorina M (OXO-M; 300 µM); iii) MPV246 (100 nM) inhibe la liberación cuantal de catecolaminas inducida por KCl (10 mM), ACh (100 µM) y OXO-M (300 µM) en células cromafines de animales CCI; y iv) NiCl2 (10 µM), un bloqueante selectivo de los canales Cav LVA, inhibe la entrada de Ca2+ a través de canales Cav LVA y la secreción cuantal de catecolaminas en células cromafines de animales CCI. Se concluye que en las células cromafines de animales CCI se incrementa la expresión de canales Cav LVA funcionales y que el efecto inhibidor de MPV2426 sobre la liberación de catecolaminas dependería fundamentalmente de la modulación de estos canales en los animales CCI.

1. Arribas-Blázquez et al. Overexpression of P2X3 and P2X7 Receptors and TRPV1 Channels in Adrenomedullary Chromaffin Cells in a Rat Model of Neuropathic Pain. Int J Mol Sci. 2019 Jan 3;20(1):155.
2. Arribas-Blázquez et al. The Adrenal Medulla Modulates Mechanical Allodynia in a Rat Model of Neuropathic Pain Int J Mol Sci. 2020 Nov 6;21(21):8325.

*Palabras clave: Dolor neuropático, médula adrenal, canales Cav LVA, receptores adrenérgicos α2*

**O8**

**PAPEL DEL RECEPTOR DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHÉIMER**

*Carmen Nieto-Vaquero[1], Cuartero MI[1,2,3], García-Culebras A[1,2,3], Sacristán S[1,2,3] and Bravo-Ferrer I[4], Hurtado O[3] y Moro MA[1,2,3].*

*1.Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain.*
*2.Unidad de Investigación Neurovascular, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.*
*3.Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (IUIN), Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain. [4]UK Dementia Research Institute.*

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que supone la principal causa de demencia a nivel mundial. Aunque la variación en genes específicos predispone al desarrollo de EA, los procesos moleculares que impulsan el desarrollo de la patología son el resultado de una interacción entre factores intrínsecos y ambientales, siendo uno de los principales factores de riesgo la edad. Sin embargo, aún se desconoce cómo los procesos moleculares asociados al envejecimiento predisponen o se alteran en la EA. Estudios en diferentes organismos, desde invertebrados hasta humanos, muestran que el Receptor para Hidrocarburos Aromáticos (AhR), que integra estímulos ambientales (desde contaminantes hasta componentes de la dieta con propiedades agonistas) en cambios transcripcionales, está implicado en el proceso de envejecimiento. Por ello, decidimos investigar el posible papel de AhR en la enfermedad de Alzheimer.

Para ello, en primer lugar, realizamos una caracterización de la expresión de AhR en nuestro modelo de EA $APP^{NL-F}$. Posteriormente, llevamos a cabo cruces entre ratones del modelo $APP^{NL-F}$ con ratones deficientes para el receptor AhR ($AhR^{-/-}$) y realizamos una caracterización histológica y bioquímica para evaluar el desarrollo de las placas amiloides en nuestro modelo de EA y en ausencia y presencia del receptor AhR. Finalmente, como aproximación complementaria, llevamos a cabo la activación del receptor mediante el agonista exógeno I3S (3-indoxilsulfato) en el modelo $APP^{NL-F}$.

Nuestros resultados muestran un incremento en la expresión del receptor AhR en el modelo de la EA $APP^{NL-F}$ que se encuentra asociado a los astrocitos. Además, demuestran que la ausencia de AhR reduce la formación de placas amiloides, los niveles de Aβ en plasma y las neuritas distróficas asociadas a las placas, mientras que su activación produce un incremento en el número de placas. Por lo tanto, se puede concluir que AhR juega un papel fundamental en el desarrollo y en la progresión de la EA y sugiere que la vía de AhR y/o su modulación por diferentes ligandos puede explorarse como potencial terapia de la EA.

**O9**

**A NOVEL ANTAGONIST OF THE TYPE 2 LYSOPHOSPHATIDIC ACID RECEPTOR ($LPA_2$), UCM-14216, AMELIORATES SPINAL CORD INJURY**

*Henar Vázquez-Villa,[1] Debora Zian,[1] Nora Khiar,[1] Román Foronda,[1] Manisha Ray,[2] Maria Puigdomenech-Poch,[3] Giovanni Cincilla,[4] Melchor Sánchez-Martínez,[4] Yasuyuki Kihara,[2] Jerold Chun,[2] Rubèn López-Vales,[3] María L. López-Rodríguez[1] and Silvia Ortega-Gutiérrez[1]*

*1.Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, E-28040 Madrid, Spain*
*2.Translational Neuroscience Initiative, Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute, 10901 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA*
*3.Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Institut de Neurociències, Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Universitat Autònoma de Barcelona, E-08193 Bellaterra, Barcelona, Spain*
*4.Molomics, Barcelona Science Park, Baldiri i Reixac 4-8, E-08028 Barcelona, Spain*

Spinal cord injury (SCI) involves damage to the spinal cord that can translate into permanent neurological disabilities and has an enormous negative impact on the daily lives of affected people. Post-injury, there currently exist few pharmacological options that treat secondary damage and limit the disruption of spinal connectivity, with current treatments limited to surgical decompression and anti-inflammatory drugs, so there is a pressing need for new therapeutic strategies. In this regard, inhibition of the type 2 lysophosphatidic acid receptor ($LPA_2$) has recently emerged as a new potential pharmacological approach to limit SCI associated damage. Towards validating this receptor in SCI, we have developed a new series of $LPA_2$ antagonists among which compound UCM-14216 (Figure 1) stands out as the most potent and selective $LPA_2$ receptor antagonist described so far ($E_{max}$=90%, $IC_{50}$=1.9 µM, $K_D$=1.3 nM; inactive at $LPA_{1,3\text{-}6}$ receptors). In addition, this compound shows efficacy in an *in vivo* mouse model of SCI where it significantly improves locomotor recovery, confirming the potential of $LPA_2$ inhibition for providing a new alternative for treating SCI.

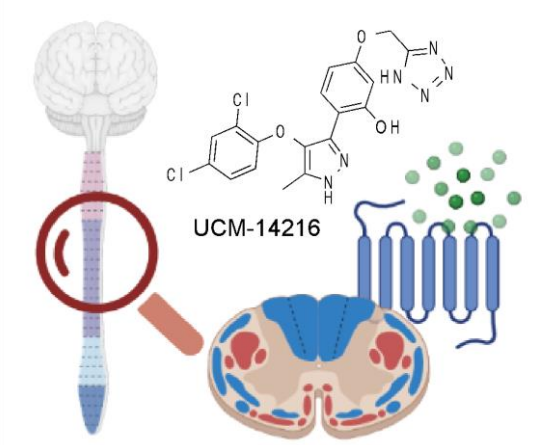


**Figure 1.** A new potent and selective $LPA_2$ antagonist for the treatment of spinal cord injury

**O10**

**PRECLINICAL EVALUATION OF CK-1Δ AND TTBK1 INHIBITORS IN A TDP-43-RELATED FRONTOTEMPORAL DEMENTIA MOUSE MODEL**

*Claudia Gonzalo-Consuegra1,3, Adrián Parrilla Mesas1, Carmen Rodríguez Cueto1,3, Loreto Martínez González2,3, Javier Fernández-Ruiz1,3, Carmen Gil2,3, Ana Martínez2,3, Eva de Lago1,3.*

*1.Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, UCM, Madrid, Spain.*
*2. Centro de Investigaciones Biológicas-CSIC, Ramiro Maetzu 9, 28040 Madrid, Spain.*
*3.Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto de Salud Carlos III, Spain.*

Frontotemporal dementia (FTD) is a neurodegenerative disease that characterizes by progressive degeneration of frontal and temporal lobes which results in cognitive, behavioral, and language dysfunction. Almost half of the FTD patients present toxic cytoplasmic aggregates of the ribonucleoprotein TDP-43 because of, among others, its post-translational hyperphosphorylation. Given that CK-1δ and TTBK1 kinases have been involved in TDP-43 phosphorylation, we hypothesize that their pharmacological inhibition with either IGS2.7 or VNG1.47 could be beneficial against TDP-43-based FTD.
Presymptomatic CaMKII-TDP-43 transgenic mice (at PND45) were daily treated with IGS2.7 (CK-1δ inhibitor, 1mg/kg), VNG1.47 (TTBK1 inhibitor, 5mg/kg) or vehicle for 45 days. Novel object recognition (NOR) test was performed at PND60 (early symptomatic stage) and PND90 (symptomatic stage). Animals were euthanized at PND90, and brain hemispheres were processed for immunohistochemistry and biochemical analysis.
As early as PND60, CaMKII-TDP-43 transgenic mice treated with IGS2.7 or VNG1.47 showed higher discrimination index and thus better cognitive performance in the NOR test than CaMKII-TDP-43 mice treated with vehicle. This finding was also observed at PND90.
Both inhibitors decreased TDP-43 phosphorylation in the prefrontal cortex (PFC) compared to non-treated CaMKII-TDP-43 transgenic mice. These benefits were accompanied, at histological level, by neuronal preservation in the PFC and the hippocampus, as well as by reduced astrogliosis in the PFC and a subtle attenuation in hippocampal microgliosis.
Our data suggest that the inhibition of CK-1δ and TTBK1 results in a decrease in TDP-43 phosphorylation and a reduction in both neuronal death and neuroinflammation. This could be a beneficial disease modifying strategy to tackle FTD with TDP-43 proteinopathy.
Therefore, we propose CK-1δ and TTBK1 as promising therapeutical targets for FTD.

**O11**

**EFECTO DEL POLIMORFISMO ARG244GLN DE DNASA1 EN EL ICTUS ISQUÉMICO**

*Blanca Diaz Benito, Moraga A., Alzamora Ll., Peña-Martínez C, Ruiz-García A., Ostos F., Martínez-Salio A., Moro M.A., Lizasoain I.*

**Background -** - Neutrophils are a key component of innate immunity with a broad pathogen-neutralizing arsenal that includes large extracellular traps known as NETs. However, NETs are also believed to be decisive contributors of immunothrombosis following stroke. Mechanisms behind NET clearance are not well understood, yet there is increasing evidence that plasma-secreted DNAse1 may play an important role.1 A worldwide distributed single nucleotide polymorphism p.Gln244Arg is known to codify DNase1 isoforms with different activity and may be crucial in our knowledge of endogenous NETs degradation.

**Aim –** Our goal is to dilucidate the role of polymorphism p.Gln244Arg in ischemic stroke.

**Method –** 320 patients who suffered acute ischemic stroke were recruited. Admission blood samples were used to determine DNAse1 genotypes (Sanger) and levels of NETs markers (ELISA). Infarct volumes were measured using DWI-MRI images or control CT scans.

**Results/Conclusions -** Our results show that patients with a more active DNAse1 (genotype AA) had significantly lower levels of NETs markers in plasma upon admission. Notably, in this same group, infarct volume was lower than in patients with a less active DNAse1 (genotypes GA and GG). As expected, we found that lower levels of elastase also correlated with lower stroke volumes. We anticipate our study to support the use of exogenous DNAse1 as a potential treatment for stroke, while it may also help explain the observed differences in outcome in otherwise comparable patients.

**Reference:**

1. Kolaczkowska, E. et al. Nat. Commun. 2015

**O12**

**PUESTA A PUNTO DE UN ALGORITMO MOLECULAR DIAGNÓSTICO EN LOS PACIENTES DE ELA Y DFT**

*Daniel Borrego-Hernández[1], Martín-Hondarza Ríos A.[1], Lucas-Gómez B.[2], Cordero-Vázquez P.[2], Herrero-Manso M.C.[3], Villarejo-Galende A.[4], Llamas-Velasco S.[4], González-Sánchez M.[4], Herrero-Sanmartín A.[4], Juárez-Rufián A.[1], García-Salamero G.[1], Martín-Casanueva M.A.[5], Esteban-Pérez J.[2] & García-Redondo A.[1]*

*1. ALS Research Lab. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (Health Research Institute 12 de Octubre Hospital) – Madrid – Spain*
*2. Neurology Department – ALS Unit. – 12 de Octubre University Hospital – Madrid – Spain*
*3. Reumatology Departament – 12 de Octubre University Hospital – Madrid – Spain*
*4. Neurology Department – Dementia Unit. – 12 de Octubre University Hospital – Madrid – Spain*
*5. Neurometabolic and Mitochondrial Diseases Lab. - Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre – Madrid – Spain*

**Introducción:** La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y la demencia frontotemporal (DFT) se consideran los extremos de un mismo síndrome neurodegenerativo con tres nexos de unión: a nivel neuropatológico, genético y clínico.

**Objetivos:** El objetivo principal de este trabajo es la caracterización genética de la población española con ELA, ELA-DFT y DFT.

**Métodos:** La cohorte empleada en este estudio es de 1554 casos índice. Se han estudiado 1198 pacientes con ELA, 160 con DFT, y, además, 196 pacientes se encuentran en el intermedio ELA-DFT. Se utiliza la PCR convencional Triple PCR y secuenciación panelizada del exoma completo, según el grupo clínico-familiar al que pertenece cada uno de los pacientes.

**Resultados:** Los genes comunes relacionados con la ELA y la DFT apenas contribuyen en pequeños porcentajes en las enfermedades esporádicas, destacando el *C9orf72* tanto para la ELAe como para la DFTe, el *SOD1* en la ELAe y el *GRN* en la DFTe. Estos mismos genes sí tienen gran relevancia en los grupos familiares y en el grupo de ELA-DFT, destacando a su vez la gran contribución de *C9orf72* (19,0%) y *SOD1* (20,3%) en ELAf, TARDBP en ELAf y DFTf y MAPT en DFTf.
**Conclusiones:** La secuenciación de Sanger debe empezar a considerarse excepcional en los casos familiares. La implementación de la NGS como método de rutina es necesaria al menos para el estudio de los casos familiares. Los estudios de NGS se sugieren a todos los casos familiares de ELA y DFT e incluyen el grupo de comorbilidad de ambas patologías (ELA-DFT) independientemente de la existencia de antecedentes familiares.

**O13**

**DISFUNCIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA EN UN MODELO PRECLÍNICO COMBINADO DE PERIODONTITIS Y DEPRESIÓN EN RATAS. PAPEL DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA ESFINGOSINA-1FOSFATO.**

*Marina Muñoz-López, Javier Robledo-Montaña, Borja García-Bueno, Juan Carlos Leza, David Martín-Hernández.*

**Resumen de la idea.** La depresión es una enfermedad mental grave caracterizada por una alteración en la respuesta emotiva en cuyas bases biológicas podría tener un papel el sistema inmune según la hipótesis inflamatoria de la depresión. Por otro lado, la periodontitis es una enfermedad inflamatoria de la encía, causada por una infección crónica multibacteriana oral cuya progresión es de carácter irreversible. Aunque muchos de los aspectos que subyacen a estas dos enfermedades siguen a día de hoy sin conocerse, diversos estudios sugieren la existencia de una comorbilidad donde la inflamación crónica podría constituir el denominador común.

**Hipótesis y objetivos.** Los animales expuestos al modelo preclínico in vivo combinado de periodontitis y depresión (Perio+CMS) (Martínez et al., 2021) presentan mayores alteraciones en la vía del mediador lipídico regulador de la homeóstasis cerebral esfingosina-1-fosfato (S1P) y a nivel de permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) que los animales que sufren los modelos de periodontitis (Perio) y de depresión (CMS) por separado y el grupo control. Objetivos. Desentrañar los posibles mecanismos que contribuyen a ambas patologías en la corteza frontal de ratas.

**Resultados preliminares.** El modelo Perio+CMS disminuyó significativamente los niveles de expresión del receptor 1 de S1P (S1PR1), que podría estar involucrado a través de la señalización RAC1/2/3 en la estabilidad de las tight junctions y en el desarrollo y la diferenciación de las células endoteliales para mantener la integridad de la BHE. Además, se observó una disminución en la expresión de algunas proteínas estructurales (ZO-1, ocludina), así como un aumento en las moléculas involucradas en el tráfico inmune (moléculas de adhesión celular y leucocitaria -ICAM-1, VCAM-1- y metaloproteinasa de matriz 9 - MMP9).

**O14**

**ALTERACIONES DE LA AUTOFAGIA Y LA MITOFAGIA EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATAS EXPUESTAS A UN MODELO EXPERIMENTAL DE DEPRESIÓN**

*Cristina Ulecia-Morón, Álvaro G. Bris, Karina MacDowell, Beatriz Moreno, Juan Carlos Leza, Javier R. Caso*

**Introducción**: El trastorno de depresión mayor (TDM) es una patología discapacitante, siendo el estrés uno de sus principales desencadenantes. La neuroinflamación y estrés oxidativo presente en el TDM conducen a una situación de desequilibrio que contribuye a su peor pronóstico. La autofagia es un mecanismo de control citoplasmático dependiente de lisosomas que permite la degradación selectiva de elementos concretos, como las mitocondrias, con el doble propósito de obtención energética y eliminación de productos dañinos.

**Materiales y métodos**: Ratas Wistar macho jóvenes fueron expuestas a un modelo Chronic Mild Stress (CMS) para el desarrollo de un fenotipo de tipo depresivo. Se realizaron técnicas bioquímicas como Western blot, RT-qPCR, inmunofluorescencia y citometría de flujo para evaluar parámetros característicos de autofagia (mTOR, ULK1, Beclin1, SQSTM1, LC3) y mitofagia (Parkin, Pink1, BNIP3, Nix, TOMM20), además de sondas MitoTracker para analizar la mitocondria.

**Resultados**: El CMS provocó la disrupción de la vía de la autofagia en la corteza frontal, indicada por disminuciones en la expresión proteica de ULK1, Beclin1, SQSTM1, entre otras, siendo los astrocitos los principales causantes de las modificaciones derivadas de SQSTM1. Extractos mitocondriales exhibieron por su parte la inducción de la mitofagia tras la exposición al CMS, apreciándose el aumento de todos los marcadores estudiados. No se detectaron cambios a nivel génico. La citometría mostró también una elevación de la concentración de mitocondrias y su potencial alterado en la microglía cortical tras el CMS.

**Conclusiones**: El CMS alteró la autofagia basal, dificultando la eliminación de productos de desecho, potenciando así el ambiente prooxidante y proinflamatorio generado por el modelo. La inducción de la mitofagia es indicativa de la acumulación de mitocondrias defectuosas a causa del estrés, que no se estarían eliminando por la interrupción de la autofagia.

**O15**

**ESTUDIO DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA RESPUESTA A PROTEÍNAS DESPLEGADAS (UPR) EN LA CORTEZA FRONTAL DE UN MODELO DOBLE-HIT DE NEURODESARROLLO EN RATA**

*Álvaro G. Bris, Cristina Ulecia-Morón, Karina S. MacDowell, Mónica Movilla-Pérez, Beatriz Moreno, Javier. R. Caso, Juan Carlos Leza*

**Introducción**: Ciertas enfermedades mentales están englobadas dentro de los que consideramos trastornos del neurodesarrollo. La respuesta a proteínas desplegadas (UPR) es producida por la acumulación de proteínas mal plegadas que provocan estrés en el retículo endoplásmico (ER). Esto puede desencadenar o exacerbar una respuesta neuroinflamatoria que afecte al neurodesarrollo y a funciones cognitivas. Nuestro objetivo es caracterizar componentes de la vía UPR, así como de factores neurotróficos y parámetros inflamatorios relacionados con el estrés del ER en la corteza frontal de un modelo "doble-hit" de neurodesarrollo.

**Materiales y métodos**: Ratas Wistar hembras y machos fueron utilizadas (n=9/grupo). Como primer agente estresor se utilizó el activador viral del sistema inmune Poly I:C, mientras que el segundo estresor fue el aislamiento social. Los animales fueron sacrificados por anestesia terminal y posteriormente decapitados para obtener la corteza frontal. Parámetros de factores neurotróficos (CREB, BDNF, TrkB), y de la vía de las MAPKs (ERK, JNK) fueron analizados por la técnica de Western Blot. Marcadores de la vía UPR (ATF4, ATF6, CHOP, XBP1s) fueron analizados por RT-qPCR. Los datos fueron analizados utilizando un ANOVA de una y dos vías con un post-hoc de Tukey ($p<0.05$)

**Resultados**: La expresión proteica de CREB y TrkB se vio disminuida en el grupo doble hit respecto al control, así como marcadores de la vía de MAPKs como Akt, ERK y JNK. La expresión génica de BDNF, ATF6, CHOP y XBP1s presentó niveles elevados en el grupo doble-hit.

**Conclusiones:** El modelo Poly I:C+Ais indica la importancia de la regulación de la vía UPR a través de parámetros neurotróficos y de las MAPKs. Además, este modelo doble hit se puede presentar como una buena forma de caracterizar desequilibrios en el estrés del ER y su relación con procesos neuroinflamatorios que afecten al neurodesarrollo

## POSTERS

**P1**

**EFECTO DE LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA DE TIPO 3 O ENFERMEDAD DE MACHADO-JOSEPH SOBRE LA MORFOGÉNESIS TEMPRANA DEL CEREBELO**

*Celia Llorente, Nagore Hernández, Marina Arribas, Rosa Gómez Villafuertes, Luis Olivos, Raquel Perez-Sen, Esmerilda G Delicado, Antonio R Artalejo, Felipe Ortega.*

La ataxia espinocerebelosa de tipo 3 o enfermedad de Machado-Joseph (SCA3/MJD) es una enfermedad neurodegenerativa causada por mutaciones que dan lugar a la expansión anómala de tripletes CAG en la proteína ataxina-3 (atx-3). La SCA3/MJD es la ataxia más común a nivel mundial (20-50% de las familias con SCA), siendo predominante en Europa y en la Península Ibérica. Esta enfermedad cursa con discapacidad grave y conduce a la muerte prematura de los pacientes debido a la aparición progresiva de alteraciones motoras, cognitivas, del equilibrio y del lenguaje para las que no existen, actualmente, tratamiento efectivo. Aunque la enfermedad debuta principalmente en edades adultas, cada vez son más los estudios que muestran que la estructura cerebral podría estar alterada desde etapas más tempranas, así como de la existencia de sintomatología inespecífica varios años antes del diagnóstico clínico. Todo ello incide en la importancia de llevar a cabo estudios centrados en averiguar en qué estadios comienzan las alteraciones neurales asociadas a la enfermedad y pongan las bases para el establecimiento de tratamientos lo más precoces posible. Por ello, estamos investigando en un modelo murino de SCA3/MJD si la proteína atx-3 mutada produce alteraciones de la morfogénesis del cerebelo. Para ello, hemos empleado una metodología implementada recientemente por nuestro grupo que permite seguir el comportamiento de las células madre neurales (NSCs) del cerebelo en la etapa postnatal así como de su progenie, en combinación con estudios immuhistoquímicos y de expresión génica y proteica. Igualmente hemos analizado en detalle la expresión de los distintos componentes del sistema purinérgico, conocido por tener un efecto neuroprotector sobre las poblaciones neuronales del cerebelo.

**P2**

**ADULT NEUROGENIC NICHES ACTIVATION IN RESPONSE TO CORTICAL NEURODEGENERATION. EFFECT OF PURINERGIC SIGNALING ON NEUROPROTECTION AND BRAIN REPAIR**

*Julia Serrano, Lucia Paniagua Herranz, María Benito, Celia Llorente, Yaiza Trueba, Eva de Lago, Rosa Gomez Villafuertes, Maria Gomez Ruiz, Javier Fernandez Ruiz, Raquel Perez-Sen, Esmerilda G Delicado, Felipe Ortega.*

Proteinopathies are neurodegenerative disorders that often produce a progressive deterioration of motor and cognitive capacities leading to a premature death. Although there is no current effective treatment once the disease surfaces, new evidence points to the early commence of the treatment as a promising strategy to stop or delay the progression of the disease. However, to deploy the treatment on a time-efficient manner it is necessary to identify when the brain alterations begin to be present. Likewise, to correct or alleviate these alterations, novel and effective pharmacological tools need to be identified. Here we explore the effect that cortical-associated proteinopathies exert in one of the main the neurogenic niches that remains active in the adulthood, the Subpendimal zone. Likewise, we investigate whether a strategy of purinergic modulation may constitute a promising therapy to palliate the neurodegeneration associated to proteinopathies.

**P3**

**INFLAMMASOME GENES EXPRESSION AS BIOMARKERS IN ALS AND FTD PATIENTS**

*Expósito-Blázquez, L.[1], Borrego-Hernández, D.[1], Calvo, A.C.[2], Herrero-Manso, M.C.[2], Cordero-Vázquez, P.[1], Villarejo-Galende, A.[3], Llamas-Velasco, S.[4], González-Sánchez, M.[4], Martín-Casanueva, M.A.[4], Esteban-Pérez, J.[1], Osta, R.[2] and García-Redondo, A.[1]*

*[1] Neurology department – ALS Unit. CIBERER. Health research Institute, Hospital Universitario 12 de Octubre – Avda. Córdoba s/n – 28041 Madrid – Spain.*
*[2] LAGENBIO-I3A, Aragonese Institute of Health Sciences (IACS), Faculty of Veterinary, University of Zaragoza – Miguel Servet, 177 – 50013 Zaragoza – Spain.*
*[3] Rheumatology department – Health Research Institute, Hospital 12 de Octubre – Avda. Córdoba s/n – 28041 Madrid – Spain.*
*[4] Neurology department – Dementia Unit. CIBERNED. Health research Institute, Hospital Universitario 12 de Octubre – Avda. Córdoba s/n – 28041 Madrid – Spain.*
*[5] Biochemistry department. CIBERER U-723. Health research Institute, Hospital 12 de Octubre – Avda. Córdoba s/n – 28041 Madrid – Spain.*

**Introduction**: There is a growing need to identify specific biomarkers that facilitate the diagnosis and prognosis of neurodegenerative diseases such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD). Neuroinflammation plays an important role in the pathogenesis of these diseases.

**Objectives:** The aim of this study is to determinate the diagnostic capacity of these inflammatory genes as potential biomarkers both on ALS and FTD, and their clinical predictors of prognosis.

**Method:** cDNA serial samples from lymphocytes of 55 patients with ALS (32 males and 23 females) and 42 patients with FTD (24 males and 18 females) were subjected to quantitative PCR in order to study expression levels of *LGALS1* and *NLRP3*. These levels were related to the main clinical parameters like days since symptoms onset, ALSFRS-r, ALSFRS-r slope, diagnostic delay, age of onset of symptoms, and others. Statistical analysis was performed using SPSS Statistics version 22 (IBM, Spain).

**Results:** We found a significant down expression of *LGALS1* in FTD patients on respect to control group. Significant differences were found in gene expression ratios of both *NLRP3* and *LGALS1* genes. Additionally, *NLRP3* expression correlated significantly with diagnostic delay in FTD patients.

**Conclusions**: The expression of *LGALS1* was found to be altered in FTD patients, but it could not be considered as a diagnostic biomarker due to the low sensitivity and specificity values shown in the present study. Regarding the functioning of the inflammasome, we have not been able to see an alteration in an important component, *NLRP3*, on ALS patients. Any case, it would be necessary to introduce new components related to inflammasome to reach more significant and conclusive results.

**P4**

**UBIQUITINATION OF CANNABINOID CB1 RECEPTOR**

*Alicia Álvaro-Blázquez[1], Carlos Costas-Insua[1,2,3], Alba Hermoso-López[1], Carlos Montero-Fernández[1], Ignacio Rodríguez-Crespo[1,2,3], Manuel Guzmán[1,2,3]*

*[1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Biology, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain*
*[2]Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, Spain*
*[3]Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain*

G protein-coupled receptors (GPCRs) are the largest superfamily of cell-surface receptors, comprising approximately 800 members, and thus play a pivotal role in the sensing and transduction of extracellular stimuli. Type-1 cannabinoid receptor (CB1R) is one of the most abundant GPCRs expressed in the brain, where it controls major plasticity functions by finely-tuning neurotransmitter release. $\Delta^9$-Tetrahydrocannabinol (THC), the main psychoactive component of the plant *Cannabis sativa*, activates CB1R. Thus, this receptor accounts for most THC-mediated effects, including the therapeutically-exploitable ones. However, the prolonged use of cannabinoid-based medicines can be hampered by the development of tolerance. Although the precise mechanisms underlying cannabinoid tolerance have not been deciphered yet, pharmacodynamic changes, such as receptor desensitization and down-regulation, are likely responsible for this phenomenon, as they control the receptor activation status and the number of receptors expressed at the cell surface. Thus, understanding the molecular pathways that lie beneath these events is crucial to improve the therapeutic use of cannabinoids. Post-translational modifications (PTMs) precisely control GPCR activity and trafficking. Specifically, lysine-residue ubiquitination, a well-known PTM that targets proteins for degradation and other possible fates, is emerging as an important regulator of GPCR localization and signalling. Based on this background, here we asked whether CB1R is ubiquitinated, and, if so, what is the role of this PTM on CB1R function. We show that CB1R is constitutively ubiquitinated in HEK293T cells, presumably for proteasomal degradation. Genetic mutation of either all the lysine residues (CB1R-0K) or solely the cytoplasmic-facing lysine residues (CB1R- 8KR) of the receptor reduced receptor ubiquitination and altered receptor signalling and subcellular location patterns, which resulted in impaired CB1R-induced ERK activation and increased CB1R cell-surface levels. Finally, preliminary data suggest that CB1R ubiquitination is activity-dependent, as agonist-evoked CB1R engagement increased receptor ubiquitination. In conclusion, our findings support that chronic CB1R activation plausibly reduces receptor levels *via* ubiquitin-dependent degradation.

**P5**

**DETECCIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DEL DAÑO EN LA BARRERA INTESTINAL Y LA TRANSLOCACIÓN BACTERIANA TRAS UN ICTUS ISQUÉMICO. EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y EL DAÑO CEREBRAL**

*Granados-Martínez Cristina [1], Alzamora LLuís [2], Alfageme Nuria [1], Fernández-Valle María Encarnación [1], Castejón David [1], Sevillano David [3], Alou Luis [3], Calleja-Castano Patricia [2], García-Segura Juan Manuel [1], Moro María Ángeles [4], Lizasoain Ignacio [2], Pradillo Jesús Miguel [1] .*

*1. Unidad de Investigación Neurovascular, Dpto. Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Spain.*
*2. Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12), Madrid, Spain.*
*3. Área Microbiología, Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Spain.*
*4. Laboratorio de Fisiopatología Neurovascular, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain.*

**Antecedentes**: El ictus es una de las principales causas de muerte y discapacidad a nivel mundial. El desarrollo de infecciones post-ictus es una de las complicaciones más frecuentes de esta enfermedad. Tras un ictus, se ha descrito la presencia de daño en la barrera intestinal (GBD) que favorece la translocación bacteriana (BT) y el desarrollo de infecciones, alterando la respuesta inflamatoria. La detección precoz de estas complicaciones podría ayudar a mejorar la evolución del paciente.

**Objetivo**: Detectar de forma precoz y no invasiva el GBD/BT post-ictus mediante resonancia magnética (IRM), y estudiar sus consecuencias sobre la inflamación periférica y el daño cerebral.

**Métodos**: Determinamos en ratas Wistar macho jóvenes naïve y a las 72h en sham/isquémicas el GBD en imágenes T1W realzadas con manitol+$MnCl_2$ como agentes de contraste, el volumen de infarto en imágenes T2W, la inflamación y la integridad de la barrera intestinal analizando los niveles de MMP-9 y ZO-1 en colon por western blot, la BT por cultivos microbiológicos de órganos cercanos al intestino, y diferentes poblaciones de células inmunes por citometría de flujo.

**Resultados**: Nuestro análisis por IRM reveló un aumento de señal en la cavidad abdominal debido a la extravasación del agente de contraste en un alto porcentaje de animales isquémicos. Estos animales con GBD también presentaron BT, aumento de los niveles de MMP-9 y disminución de ZO-1, alteración de los niveles periféricos de monocitos y granulocitos, y aumento del volumen de infarto.

**Conclusiones**: Nuestro estudio muestra que el ictus isquémico produce GBD y BT en un porcentaje importante de animales isquémicos, lo que altera la respuesta inmune y aumenta el volumen de infarto. Además, nuestros resultados con el nuevo protocolo de IRM para analizar la GBD tras ictus muestran que podría ser útil para detectar de forma no invasiva estas complicaciones en pacientes con ictus.

**P6**

**MECHANISMS OF POST-STROKE COGNITIVE IMPAIRMENT: HIPPOCAMPAL ALTERATIONS**

*Torres-López C [1,2,3], Cuartero MI [1,2,3], De la Parra J [4], García-Culebras A [1,2,3], Jareño-Flores T [1,2], Benito M [5], Castejón D [2,6], Fernández-Valle E [2,6], Fraga-E [1,2,3], Villatoro-González P [1], García-Segura JM [2,6], Lizasoain I [2,3,7], Moro MA [1,2,3,7]*

[1] *Neurovascular Pathophysiology, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain.*
[2] *Dept. Farmacología, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.*
[3] *Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (IUIN), Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.*
[4] *GW Pharmaceuticals*
[5] *Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo*
[6] *ICTS Bioimagen Complutense (BioImaC), Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.*
[7] *Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12), Madrid, Spain.*

Stroke produces a progressive impairment of hippocampus-dependent memory in ~40% of mice exposed to the ischemic insult (Cuartero et al., 2019). The possible mechanisms underlying this impairment are the focus of interest of this work.
To perform this study, stroke was induced by occlusion of the middle cerebral artery (MCAO) in 2-month old C57BL/6 male mice. Different hippocampal metabolites and neurotransmitters were analysed at different times after the surgery by magnetic resonance spectroscopy and episodic memory was evaluated using the contextual fear conditioning test. The number of microglia, astrocytes, neuroblasts, parvalbumin+ interneurons and somatostatin+ interneurons was analysed by immunofluorescence and confocal microscopy.
Our results show several changes in neurometabolite levels, mainly at 14 days after the surgery. Mice subjected to ischemia showed an increase in inositol at that time as well as astrogliosis and some variations in microglia cells number. We also observed greater hippocampal levels of N-acetylaspartic acid (NAA) in the MCAO mice and, accordingly, a greater density of doublecortin+ cells in both ischemic subgranular zones. In addition, there was a higher level of GABA at the ipsilesional hemisphere when compared with the contralesional and the sham ones; in agreement, there was an increase in the number of hippocampal immunoreactive somatostatin+ interneurons. Worth highlighting, higher hippocampal contralesional GABA levels at 14 days after ischemia correlated with worse memory at 35 days ($n= 10-15$; $P < 0.05$). Interestingly, blocking the GABAergic influence improved the memory deficits after stroke ($n = 5-15$; $P < 0.05$).
In conclusion, our data suggest that experimental stroke by MCAO in mice induces hippocampal alterations which may underlie the cognitive deficit observed.

**P7**

**EFFECT OF NEUTROPHIL CIRCADIAN RHYTMS IN ISCHEMIC STROKE**

*Sandra Vázquez-Reyes, María Isabel Cuartero, Alicia García-Culebras, Francisco Javier Castro-Millán, Andrea Rubio-Ponce, Tania Jareño-Flores, Marcos Galán-Ganga, Jorge Hernández-Matarazzo, Andrés Hidalgo-Alonso, Ignacio Lizasoain and María Ángeles Moro.*

**Background**: Ischemic stroke is a devastating disease that is currently the second cause of death in the world. Circadian rhythms are postulated as one of the possible causes responsible for the translational failure in most neuroprotective strategies that are developed. Due to the key role played by the neutrophils in the pathophysiology of this disease.

**Aim:** This work has studied the influence of this immune cells and its phenotypic heterogeneity, partially as a result of their circadian rhythmicity, on the susceptibility to cerebral ischemia.

**Method**: For this purpose, an experimental model of ischemic stroke in mice has been performed by permanent middle cerebral artery occlusion (pMCAO), to study the differential response to ischemia after 24 h, through magnetic resonance imaging, flow cytometry and immunofluorescence, in their active period (ZT13-ZT15) versus their inactive period (ZT5-ZT7).

**Results/Conclusions**: During the active period, we observe that there is a reduction in the infarcted area, however, they present a greater infiltration of neutrophils. Interestingly, only during the inactive period there is an increase in blood neutrophilia, both in young and mature neutrophils, in response to ischemia. In addition, the number of neutrophils in different organs, as possible reservoirs of these cells, was studied, observing a differential response in the lungs and in the bone marrow of the tibia and the skull between the two activity periods. Therefore, our results are indicative that circadian rhythms promote a differential response in neutrophils to cerebral ischemia in different organs, including the brain, between both periods of activity.

**P8**

**CB1R AS A POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET IN CRBN DEFICIENCY-ASSOCIATED MENTAL RETARDATION**

*Alba Hermoso-López[1*], Carlos Costas-Insua[1,2,3*], Estefanía Moreno[2,4], Alicia Álvaro- Blázquez[1], David Martín-Gutiérrez[1], Irene B. Maroto-Martínez[1,2,3], Carlos Montero- Fernández[1], Rebeca Diez-Alarcia[5,6], Leyre Urigüen[5,6], Vicent Casadó[2,4], Ignacio Rodríguez-Crespo[1,2,3], Manuel Guzmán[1,2,3]*

*[1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Biology, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain [2]Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, Spain. [3]Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain. [4]Department of Biochemistry and Molecular Biomedicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain [5]Department of Pharmacology, University of the Basque Country/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa 48940, Spain*
*[6]Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid,28029, Spain*
**Contributed equally to this work*

Cereblon (CRBN), a 442 amino-acid long protein, was first identified as a protein mutated in humans with an autosomal recessive nonsyndromic mental retardation (ARNSMR) syndrome. Specifically, deletion of the last 23 amino acids of the protein (R419X mutation) was responsible for this phenotype. Later, CRBN was described as the primary target of thalidomide and as a substrate receptor for the cullin-RING E3 ligase complex with DNA damage binding protein-1 (DDB1), Cul4A and Roc1. Recent studies have found selective cognitive impairments in CRBN knock-out mouse models similar to the alterations found in patients carrying the R419X mutation.

Here, by using the *Cre-LoxP* technology, we have established three new mouse lines carrying selective genetic deletions of the *Crbn* gene in i) the whole body (CRBN-KO),
ii) telencephalic glutamatergic neurons (Glu-CRBN-KO) or iii) forebrain GABAergic neurons (GABA-CRBN-KO), in order to study the differential contributions of CRBN subpopulations to memory and cognition. Interestingly, specific recognition memory shortfalls were found in CRBN-KO and Glu-CRBN-KO mice, but not in GABA-CRBN- KO animals, and they could be reverted by the i.p. administration of the cannabinoid CB1 receptor (CB1R) antagonist rimonabant, thus suggesting an enhanced CB1R function as an underlying mechanism. Of note, wide-scale proteomic experiments in our laboratory have identified CRBN as a potential CB1R-interacting protein. Cell signalling experiments have unveiled that CRBN binding to CB1R selectively impairs the CB1R- mediated inhibition of the cAMP pathway. Taken together, these findings support a plausible molecular link between CRBN deficiency, memory malfunctioning and CB1R hyperactivation, and suggest that blocking CB1R could be a promising new pharmacological intervention in this disease.

**P9**

**EFECTO NEUROPROTECTOR DE LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR $CB_1$ EN UN MODELO MURINO DE DEMENCIA FRONTOTEMPORAL (TDP-43-DFT)**

*Raquel Martín Baquero, Laura García Toscano, Claudia Gonzalo-Consuegra, Carmen Rodríguez Cueto, Javier Fernández Ruiz, Eva de Lago*

La demencia frontotemporal (DFT) es una enfermedad que se caracteriza por la degeneración progresiva de los lóbulos frontales y temporales del cerebro, lo cual tiene como consecuencia la aparición de déficits cognitivos, comportamentales y del lenguaje. Dado que no existe ningún tratamiento efectivo, existe la necesidad de buscar nuevas estrategias terapéuticas para esta enfermedad. Los cannabinoides son un grupo de compuestos que actúan sobre el sistema endocannabinoide (SEC) y que producen diferentes efectos como efectos antiinflamatorios, mejora de la homeostasis, integridad y supervivencia neuronal, ejerciendo de esta forma efectos beneficiosos en numerosas enfermedades neurodegenerativas como en la enfermedad de Parkinson, Alzheimer o esclerosis lateral amiotrófica. Sin embargo, se tienen menos datos acerca de los efectos de la modulación del SEC en la DFT. El principal objetivo de este trabajo fue explorar los efectos terapéuticos de la activación farmacológica del receptor $CB_1$ en un modelo murino de DFT que sobreexpresa la proteína TDP-43 bajo el promotor -CaMKII, y cuya expresión produce deterioro cognitivo temprano. Los ratones fueron tratados diariamente por vía intraperitoneal con el agonista selectivo del receptor $CB_1$ ACEA (1,5 mg/kg) desde fases presintomáticas (DP45) hasta estadios sintomáticos (P90). Dos semanas después de comenzar el tratamiento (DP60), ya se puede ver una mejora en el deterioro cognitivo, medido mediante el test de reconocimiento de objetos (NOR), en los ratones TDP-43-DFT tratados con ACEA al compararlos con los tratados con vehículo, siendo este efecto más evidente al final del tratamiento (DP90). Los análisis histopatológicos muestran preservación neuronal (marcaje con Hoechst) tanto en el giro dentado (GD) como en la región CA1 del hipocampo, siendo este efecto menos pronunciado en la corteza prefrontal (CPF). Además, también se observa una disminución en la inmunorreactividad del marcador de microglía Iba1 y del marcador de astrocitos GFAP principalmente en el GD y CA1 del hipocampo. En resumen, nuestros datos confirman que la modulación selectiva del receptor CB1 produce efectos neuroprotectores y preserva del deterioro cognitivo en un modelo murino de TDP-43-DFT, por lo que se puede considerar una diana farmacológica para esta patología, aunque estudios adicionales son necesarios.

**P10**

## INVESTIGATION OF NEW TARGETS FOR DEVELOPING A CANNABINOID-BASED NEUROPROTECTIVE THERAPY IN PARKINSON'S DISEASE.

*Santiago Rodríguez-Carreiro, Elisa Navarro, María Gómez-Cañas, Concepción García, Javier Fernández-Ruiz*

Cannabinoids and, in general, the endocannabinoid system have emerged as a promising strategy for the treatment of Parkinson's disease (PD), the second-most common neurodegenerative disorder. A growing body of preclinical evidence points to the effectiveness of cannabinoids in combating the pathological events and neurological signs underlying PD, though a disease-modifying therapy is not available yet. Our group has long been contributing to the progress of cannabinoid research in PD, investigating new targets for developing a cannabinoid-based neuroprotective therapy for this disease following different lines of research. One of our approaches is based on the distinct pharmacological profile shown by different enantiomers of some natural phytocannabinoids as cannabidiol (CBD). Whereas the naturally occurring (-)-CBD does not bind the classical cannabinoid type-1 (CB1) and type-2 (CB2) receptors, we recently found that the synthetic enantiomer (+)-CBD exhibits a greater affinity at both cannabinoid receptors, and this also happens with the (-) and (+) enantiomers of cannabidivarin (CBDV) and some synthetic derivatives. Our hypothesis is that (+)-CBD (and its (+)-derivatives) may exert more potent effects against mitochondrial dysfunction, oxidative stress, glia-driven inflammation, α-synuclein aggregation and neuronal death in PD than (-)-CBD (and its (-)-derivatives), as it may add receptor binding-mediated effects to the classic cannabinoid receptor-independent effects of the naturally-occurring (-)-CBD. Such objective is being currently investigated in in vitro and in vivo models of PD. In a second approach, based on recent studies that proposed the activation of the CB1 receptor as a strategy to reduce α-synuclein aggregates (which represent a major pathological hallmark in PD) by activating autophagy, we are using mice with AAV-mediated overexpression of mutant A53T α-synuclein, as well as pharmacological and genetic tools to selectively modify this cannabinoid receptor. In addition to autophagy-related markers, we are also interested in investigating some regulators of protein homeostasis that may strongly interact with the CB1 receptor such as the chaperone BiP or the ubiquitin E3 ligase cereblon. Our last experimental objective is the study of cannabinoid receptors other than CB1 and CB2 receptors, as the case of nuclear receptors of the PPAR family, as well as some orphan receptors, in particular GPR55, which appears to be particularly relevant in PD due to its major expression in basal ganglia and its role in the control of movement. We are currently working in: (i) identifying how this receptor is altered in distinct experimental models of PD and post-mortem human samples; (ii) evaluating the potential benefits of GPR55 ligands to delay/arrest the disease progression in these experimental models; and (iii) generating different parkinsonian lesions in GPR55-deficient mice to detect possible changes in the progression of the pathological phenotype. In summary, some novel cannabinoid-based strategies are currently being investigated in our group with the objective to progress towards a clinical exploitation of specific cannabinoids as effective neuroprotective agents in PD.

**P11**

**ESTUDIO DEL PROCESO DE MIELINIZACIÓN EN UN MODELO MURINO DE SÍNDROME DE DRAVET**

*Álvaro Sierra[1], Valentina Satta[1,2], Inés Hernández[1,2], Javier Fernández Ruiz[1,2], Onintza Sagredo[1,2]*
*1 Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España*
*2 Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS) e Instituto Universitario de Investigación en Neuroquímica (IUIN), Madrid, España.*

El síndrome de Dravet (SD) es un síndrome epiléptico causado por mutaciones en el gen *Scn1a* que codifica la subunidad α1 del canal de sodio Nav1.1, lo cual se asocia con convulsiones febriles que progresan a convulsiones tónico-clónicas graves y comorbilidades diversas. El objetivo de este estudio es describir si existe un proceso de desmielinización asociado al SD utilizando un modelo murino de la enfermedad. Estudiamos el impacto de las convulsiones en la integridad de la mielina, analizando el estado de la Proteína Básica de la Mielina (MBP) y de la Glicoproteína de Oligodendrocitos de la Mielina (MOG), mediante RT-qPCRs y pruebas de inmunofluorescencia. Se ha demostrado que, a edades muy tempranas del desarrollo los animales presentan un estado de desmielinización en la corteza prefrontal y el hipocampo. Es necesario llegar a entender cómo se alcanza esta situación patológica en el SD para permitir el desarrollo de tratamientos más especializados y eficientes frente a esta enfermedad rara.

**P12**

**CHARACTERIZATION OF THE PHOSPHORYLATION OF CANNABINOID CB1 RECEPTOR**

*Martín Migallón, Guillermo; de la Cruz Domínguez, David; García Martín, Raquel; Costas Insua, Carlos; Álvarez Calles, Ignacio; Rodríguez-Crespo J. Ignacio* & Guzmán Pastor, Manuel**

The endocannabinoid system is a complex signaling mechanism, which can be used as a target to treat different diseases. However, its high complexity leads to different actions in the Central Nervous System. This functional divergence is related to the binding of intracellular interacting proteins to the cannabinoid CB1R receptor. The interaction between these proteins depends on post-translational modifications within the receptor, and phosphorylation is one of the most important ones. At present, the mechanisms by which the receptor is phosphorylated or the cellular functions of these phosphorylations are not yet known in detail. Therefore, in this work we have begun to associate different cellular contexts with the presence of phosphorylations in the receptor. We found that Ser441 is phosphorylated when a receptor construct was co-expressed together with PKCα. Moreover, we have begun to characterize the functional relevance of phosphorylations by studying the activation of the ERK signaling pathway depending on the phosphorylation context of the CB1R receptor. Pending further results, a clear increase in this signaling pathway is observed when phosphomimetic mutants of the receptor at several residues are studied. This activation is observed both under basal conditions and in the presence of the synthetic ligand WIN 55,212-2. These results are just the beginning for further studies to elaborate an interaction map covering the causes and the consequences of CB1R receptor phosphorylation.

**P13**

**EL PAPEL DE LA MICROGLÍA Y LA VÍA DE LA ESFINGOSINA-1-FOSFATO EN LA NEUROINFLAMACIÓN. RESULTADOS DE UN MODELO PRECLÍNICO *IN VIVO* DE PERIODONTITIS Y DEPRESIÓN**

*Javier Robledo-Montaña, Marina Muñoz- López, David Martín Hernández, Juan Carlos Leza, Borja García-Bueno*

La depresión es una enfermedad psiquiátrica crónica de etiología multifactorial cuya fisiopatología completa sigue siendo aún desconocida. El estrés y la comorbilidad con otras patologías inflamatorias son factores de riesgo de enfermedades psiquiátricas. La evidencia epidemiológica señala que la periodontitis, como fuente de inflamación crónica de bajo grado, podría estar asociada con la depresión, pero los mecanismos subyacentes aún no se han dilucidado.

Desarrollamos un modelo combinado de periodontitis y de depresión (exposición a *chronic mild stress* (CMS)) -previamente descrito en Martinez et al., 2021- para estudiar el papel que desempeña la vía del mediador lipídico regulador de la homeóstasis cerebral esfingosina-1 fosfato (S1P) a través de su receptor S1PR3 en el proceso de la activación microglial durante la respuesta neuroinflamatoria.

En este estudio, observamos un aumento significativo en la población microglial en la corteza prefrontal en los grupos de CMS y modelo combinado de periodontitis+CMS en comparación con el control. Además, hubo un cambio en su morfología y tamaño que puede estar relacionado con su estado de reactividad. La expresión del receptor S1PR3 en la corteza frontal aumentó después de la exposición a CMS y podría modular la activación de la microglía durante la neuroinflamación y conducir a la liberación de citocinas proinflamatorias.

**P14**

**ESTUDIO PRECLÍNICO DEL PAPEL DEL RECEPTOR $CB_2$ CENTRAL Y PERIFÉRICO EN EL MODELO MURINO DE ELA SOD1 (G93A)**

*Marta Gómez Almería, Carmen Rodríguez Cueto, Javier Fernández Ruiz, Eva de Lago*

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa sin tratamiento y caracterizada por la degeneración progresiva de las motoneuronas superiores e inferiores. Esta perdida neuronal produce, además, atrofia muscular y desencadena un proceso clínico en el que se incluye debilidad, parálisis y finalmente, la muerte entre 3 y 5 años tras el diagnóstico, generalmente a causa de fallo respiratorio. La modulación del sistema cannabinioide endógeno, un sistema de comunicación intercelular se ha propuesto recientemente como una opción terapéutica para la ELA. Durante la progresión de la enfermedad se ha descrito la sobreexpresión del receptor cannabinoide de tipo 2 ($CB_2$) en médula espinal y corteza motora, lo que se ha interpretado como una respuesta endógena protectora, similar a lo observado en otras enfermedades degenerativas. Además, datos previos de nuestro grupo demuestran que la activación del receptor CB2 tiene efectos neuroprotectores y antiinflamatorios en modelos murinos de ELA, mientras que su ablación adelanta la aparición de la sintomatología. Sin embargo, no existen estudios que discriminen los efectos de la activación del receptor CB2 a nivel de SNC frente a su activación en tejidos periféricos como el músculo esquelético.

Es precisamente en este estudio en el que está centrado este trabajo. Para ello, hemos realizado un estudio farmacológico en el modelo murino de ELA SOD1(G93A), utilizando un agonista del receptor CB2 que atraviesa la barrera hematoencefálica (Ro-686) y uno periféricamente restringido (Ro-687), incluyendo, además, sus respectivos controles, desde el DPN 60 al DPN120. Durante el tratamiento se realizaron diferentes análisis comportamentales en el que se incluyó efecto en la fuerza de las patas o actividad motora, entre otros. Ambos compuestos disminuyeron la escala clínica de los ratones y aumentaron su fuerza. Sin embargo, solo el agonista central fue capaz de disminuir la distonía de los ratones transgénicos comparados con los tratados con vehículo. A nivel histológico, los estudios revelaron que ambos compuestos tienen un efecto neuroprotector y antiinflamatorio en la médula espinal, al disminuir la muerte neuronal (tinción de Nissl) y reducir la microgliosis (inmunoreactividad Iba-1).

Por tanto, en base a estos resultados preliminares, tanto la activación del receptor CB2 en tejidos periféricos, como su activación conjuntamente con el receptor a nivel central, produce efectos neuroprotectores y antiinflamatorios a nivel de la medula espinal y confirman el potencial terapéutico de su modulación en la ELA.