

## Convocatoria de Contratos Posdoctorales asociados a grupos de alto nivel productivo.

---

### MEMORIA DE ACTIVIDADES

GRUPO DE INVESTIGACIÓN: NEUROPSICOFARMACOLOGIA Y PSICOBIOLOGIA

CÓDIGO PAIDI: CTS-510

**DENOMINACIÓN DE LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN LA QUE SE INTEGRARÁ EL INVESTIGADOR POSDOCTORAL:** Estudio del Sistema Noradrenérgico en la Comorbilidad Dolor-Depresión: una Vía de Innovación Farmacológica

#### RESUMEN PROYECTO INVESTIGADOR A DESARROLLAR EN LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Depresión, ansiedad y trastornos cognitivos aparecen asociados a diferentes cuadros de dolor crónico. Resulta necesario conocer los mecanismos que expliquen y/o detengan el paso de una entidad a otra, evitando el circuito de cronicidad dolor-trastorno mental. Proponemos que el aumento de la transmisión de la información nociceptiva ascendente desde el locus coeruleus hacia la corteza prefrontal y el sistema límbico (amígdala) que ocurre en dolor crónico neuropático conduciría a un estado mental patológico a lo largo del tiempo (Fase Tardía) que se traduciría en estados de depresión y ansiedad y trastornos cognitivos. Estos procesos mentales podrían ser reflejo de alteraciones iniciadas o mantenidas por el locus coeruleus en respuesta al dolor crónico. Asimismo, el bloqueo de este proceso de sensibilización inicial o la reversión de los cambios fisiopatológicos producidos podrían constituir adecuadas dianas terapéuticas. Nuestros estudios anteriores y la bibliografía actual nos ha llevado a proponer un curso temporal para el desarrollo de esta comorbilidad. Así pretendemos evaluar los cambios fisiopatológicos inherentes a cada Fase correlacionándolos con las modificaciones comportamentales que se produzcan y hallando posibles dianas farmacológicas para revertir el paso de una Fase a otra.

Para llevar a cabo estos objetivos utilizaremos una combinación de aproximaciones experimentales en un modelo animal de dolor neuropático que incluye una completa batería de estudios conductuales, así como experimentos con trazadores neuronales, electrofisiología in vivo, inmunohistoquímica, western blotting y Elisa en animales *wild-type* y genéticamente modificados, ratas transgénicas TH Cre, utilizando la tecnología DREADD (*receptores diseñados para activarse exclusivamente por fármacos exógenos*).

## 1. INTRODUCCIÓN

(máximo 1 páginas)

Deben tratarse aquí los antecedentes y estado actual de los conocimientos científico-técnicos, relacionada con la actividad que desarrollará el Investigador Posdoctoral

Actualmente el dolor crónico es considerado un factor precipitante para sufrir depresión y ansiedad, así como ciertos trastornos cognitivos. Son necesarios biomarcadores que puedan predecir esta comorbilidad y resulta imperativo innovar en tratamientos que puedan frenar el paso de una entidad a otra evitando la cronicidad. Así, es ineludible investigar los mecanismos neurobiológicos que subyacen en esta comorbilidad para saber cómo interrumpir el círculo dolor crónico–deficiente salud mental.

Estudios preclínicos han demostrado que la inducción de dolor experimental conlleva a que los animales muestren comportamientos de tipo depresivo, ansioso y déficit cognitivo a lo largo del tiempo, sugiriendo que el tiempo es un factor crítico y proveyéndonos de una herramienta experimental con alta reproducibilidad. Nuestros estudios anteriores sugieren que el Locus Coeruleus (LC) es un área que actuaría como nexo para la transmisión del dolor, de tipo neuropático, entre la médula espinal y áreas corticolímbicas que podría ser crítica para el desarrollo de las patologías mentales asociadas. Proponemos que la activación descendente del LC en una Fase Temprana reduciría o retrasaría la severidad del dolor pero que este sistema analgésico endógeno fracasaría rápidamente conllevando al estado de dolor crónico típico de las neuropatías (Fase Intermedia). Por otro lado, sabemos que el LC se activa de manera fisiológica ante un evento biológicamente relevante, especialmente aquellos de contenido emocional como sería una situación hostil o un estímulo doloroso agudo, poniendo de manifiesto la capacidad de selección del LC ante el tipo de estímulo que va a ser transmitido ascendentemente hacia áreas corticolímbicas. En este sentido, hemos comprobado en las Fases Temprana e Intermedia existe un aumento de la actividad electrofisiológica ante un estímulo doloroso evaluado como ratio fásico/tónico que podría explicar el aumento de la aversividad a la estimulación dolorosa en el dolor crónico. Sin embargo, desconocemos los cambios que ocurren en la Fase Tardía y que coinciden temporalmente con el desarrollo de las alteraciones conductuales (depresión, ansiedad y déficit cognitivo). Este proyecto propone que en la Fase Tardía habría una sensibilización ascendente tónica desde el LC que provocaría una disminución del ratio fásico/tónico en el LC que provocaría que se activaran los receptores alfa-1 adrenérgicos de la corteza prefrontal y por tanto pérdida del control arriba-abajo hacia la amígdala (receptores beta-adrenérgicos) conduciendo a una inadecuada activación de este circuito que podría ser responsable de todos o algunas de las manifestaciones comportamentales.

Evaluaremos un modelo de mononeuropatía dolorosa en el ciclo temporal: Fase Temprana (mecanismos analgésicos endógenos), Fase Intermedia (fracaso de los mecanismos endógenos y fenotipo Dolor) y Fase Tardía (sensibilización ascendente y fenotipo Dolor+Trastorno Mental). Para llevar a cabo estos objetivos realizaremos estudios conductuales y farmacológicos, así como experimentos con trazadores neuronales, electrofisiología y diversos métodos de evaluación proteica en animales wild-type y genéticamente modificados, ratas transgénicas Tirosina Hidroxilasa-Cre, utilizando la tecnología DREADD (receptores diseñados para activarse exclusivamente por fármacos exógenos) que nos permitirá evaluar específicamente la actividad de la vía noradrenérgica, así como de dianas terapéuticas de esta vía.

## 2. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

(máximo 1 páginas)

Se deben detallar y justificar la metodología y el plan de trabajo que se proponen durante los dos años del contrato posdoctoral

**Animales:** Los estudios serán realizados en ratas macho de la cepa Long Evans-Tg(TH-Cre)3.1.Deis (250–300 g). En los procedimientos experimentales se seguirán las normas de la Unión Europea 2010/63/EU y el Real Decreto 53/2013. En los estudios comportamentales se realizaran grupos experimentales con una n=10 y se usará una n=5-8 en los estudios no comportamentales. Los puntos temporales objeto de estudio serán: Fase Temprana (2 días tras la lesión), Fase Intermedia (7 días) y Fase Tardía (a partir de los 28 días tras la lesión).

**Modelo de Dolor Neuropático:** *Chronic constriction injury, CCI.*

**Registro extracelular de las neuronas del LC y electrocorticogramas (ECoG)** en animal anestesiado y despierto se empleará para determinar el estado de las propiedades electrofisiológicas del núcleo en conexión con sus aferencias y eferencias.

**Técnicas de Microinyección :** Manipulación selectiva del input del LC sobre áreas diana (DREADDs): Se usarán ratas transgénicas TH-Cre para controlar farmacológicamente la actividad de vías específicas de interés mediante inyecciones de virus DREADD rM3Ds o hM4D. Dependiendo de los resultados previos, se realizarán administraciones uni- o bilaterales, así como se seleccionarán las áreas de las aferencias de interés. Para manipular selectivamente el input noradrenérgico del LC sobre la ACC (corteza cingulada anterior), por ejemplo, se administrará clozapina-N-oxidada (CNO) en la ACC en las ratas transgénicas TH-Cre. La administración de CNO se realizará mediante la implantación bilateral de una cánula en la ACC en la misma cirugía de la administración del virus o dos semanas después en otro procedimiento quirúrgico. Los estudios comportamentales evaluarán las diferentes esferas de la percepción del dolor (sensorial y emocional), así como comportamiento tipo depresivo, de nivel de ansiedad y cognitivo utilizando tests adecuados.

**Análisis de Datos :** Para comparar medias entre dos grupos se empleará el test de la t-Student y para más de dos grupos un análisis de varianza, seguida de tests post hoc. El grado de significación será  $p < 0.05$ .

<i>Plan de Trabajo</i>	Año	
	1	2
<b>1. Estudios Electrofisiológicos. Actividad Tónica y Fásica</b>		
<b>2.A. Optimización DREADDs</b>		
<b>2.B. Estudios comportamentales con DREADDs</b>		

## 5. BREVE DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

(máximo 1 páginas)

Describir brevemente la actividad investigadora del grupo de investigación en el que se integra el investigador posdoctoral.

El Investigador Postdoctoral se incorporará a nuestro Grupo de Investigación en Neuropsicofarmacología y Psicobiología (CTS-510) del Plan Andaluz de Investigación que tiene una amplia trayectoria en la temática del proyecto, concretamente las relaciones existentes entre dolor crónico y comorbilidad psiquiátrica, y su tratamiento farmacológico, especialmente antidepresivos.

Asimismo, el Grupo pertenece al Centro de Investigación Biomédica en Red del Instituto de Salud Carlos III en el Área de Salud Mental: CIBER de Salud Mental (CIBERSAM: [www.cibersam.es](http://www.cibersam.es)). En este consorcio de 25 instituciones de excelencia investigadora, el grupo lleva el liderazgo en la temática de este proyecto en uno de los Programas Transversales, así como en el Programa de Innovación Terapéutica. Esta circunstancia permitirá al Investigador formarse en relación a la temática con grupos de excelencia del área de la salud mental, particularmente en dominios traslacionales. Por otro lado, el CIBERSAM tiene un Programa Formativo para jóvenes investigadores que permitirá al Investigador participar en los Cursos y Seminarios específicamente destinados a ellos.

*Breve descripción del desarrollo científico o profesional de los doctores egresados:* **GISELA DA SILVA BORGES** se ha incorporado en el mes de Septiembre a la unidad INSERM/UdA U1107 Neuro-Dol, Trigeminal Pain and Migraine en Clermont-Ferrand (Francia) como postdoctoral. **LIDIA BRAVO** ha estado durante 1 año en el Laboratorio del Prof. Juan Nacher (Universidad de Valencia) gracias a un contrato post-doctoral de la Junta de Andalucía y ha sido Profesora de Psicobiología de la Universidad Internacional de La Rioja. Actualmente es Profesora del Área de Psicobiología en la Universidad de Cádiz. **CRISTINA ALBA** ha estado durante 2 años en la unidad INSERM/UdA U1107 Neuro-Dol, Trigeminal Pain and Migraine en Clermont-Ferrand (Francia) como postdoc en el laboratorio del Prof. Dallel y ha conseguido una Beca Juan de la Cierva en la Universidad del País Vasco. **BLANCA LORENA COBO** actualmente es profesora contratada en la Universidad de Cali (Colombia). **ESTHER BERROCOSO** consiguió una beca Marie-Curie en la Universidad de Cambridge (Reino Unido), posteriormente una beca de reincorporación Marie-Curie en la Universidad de Cádiz y actualmente dirige el Grupo de Investigación en Psicobiología y Neuropsicofarmacología (CTS-510). **ANTONIO ORTEGA ALVARO** es investigador del Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud de la Universidad Pompeu Fabra. La mayoría de los otros doctores más antiguos tienen también trabajo de investigador.