

# SEÑALIZACIÓN SEROTONINÉRGICA ASTROCITO-NEURONA Y SU DISFUCIÓN EN EL TRASTORNO DEPRESIVO

PREMIO ALBERTO RÁBANO 2024

**Candela González Arias**

Directora: Dra. Gertrudis Perea

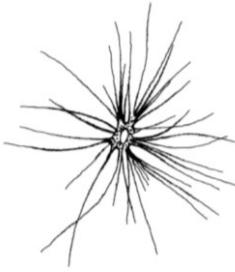
Laboratorio de Redes Neuro-Gliales



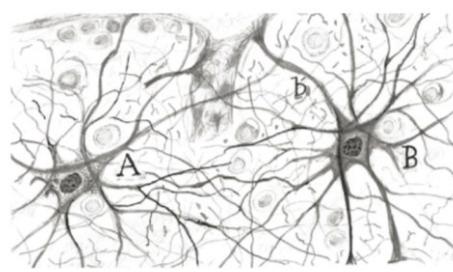
**UAM** Universidad Autónoma  
de Madrid



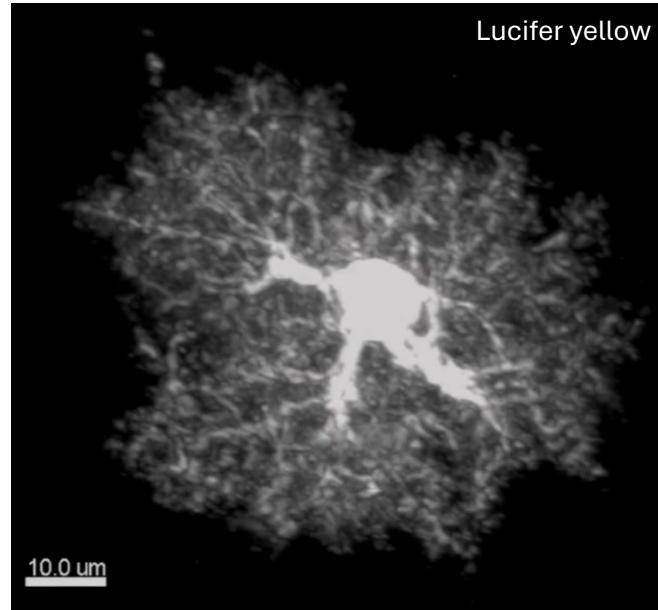
Otto Deiters. 1865



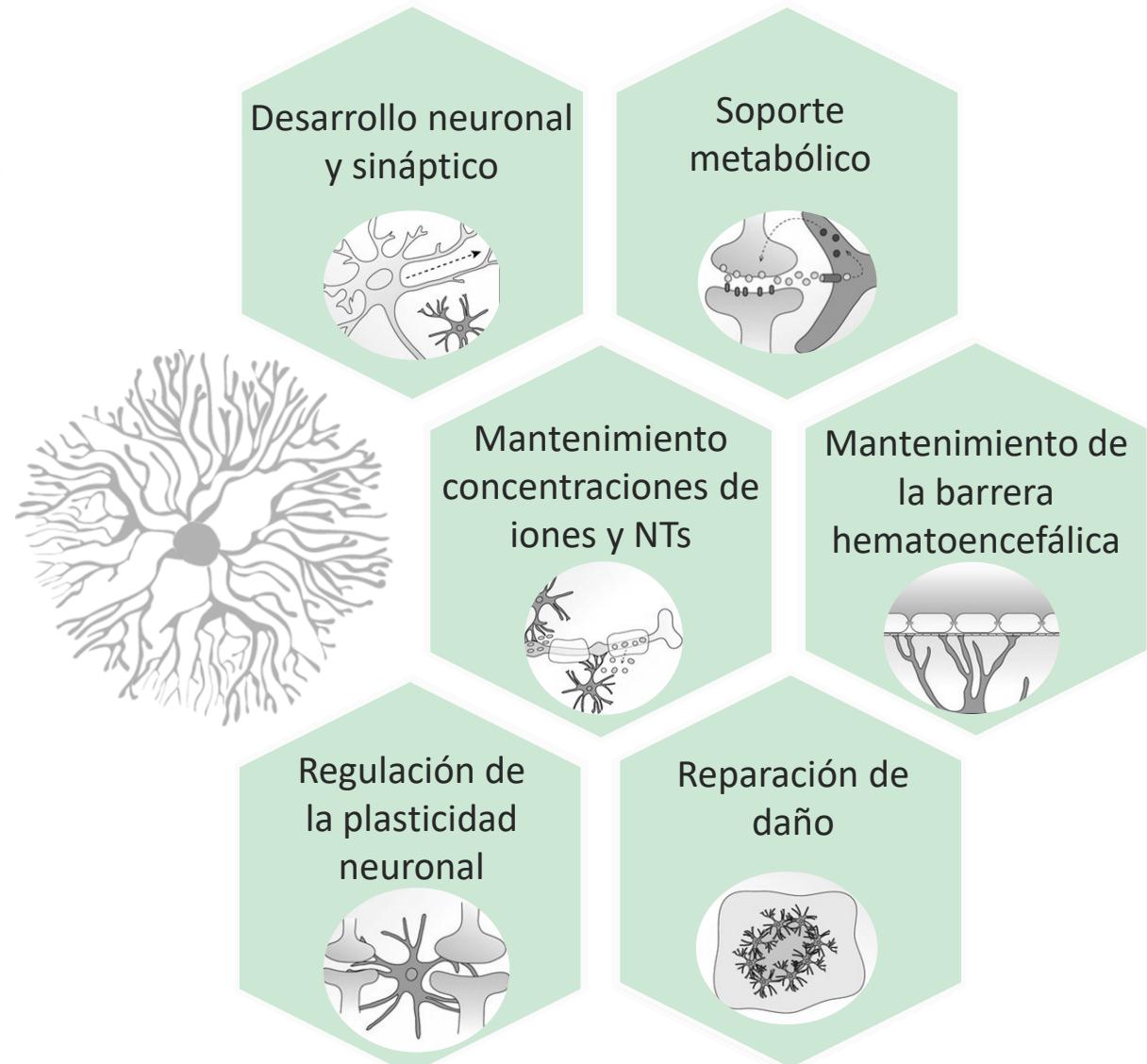
Camilo Golgi. 1871

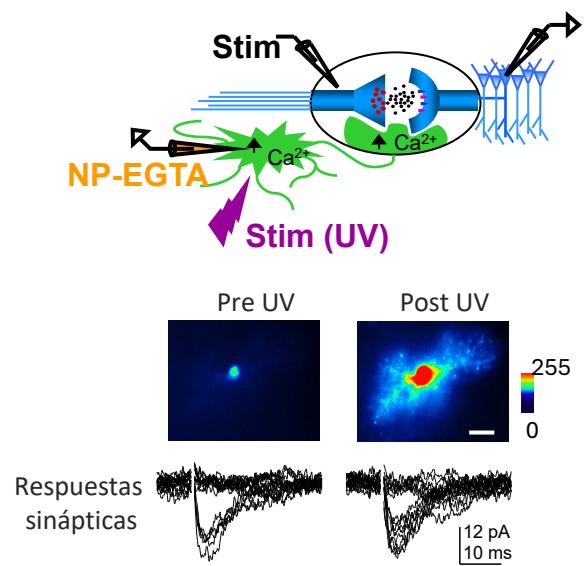
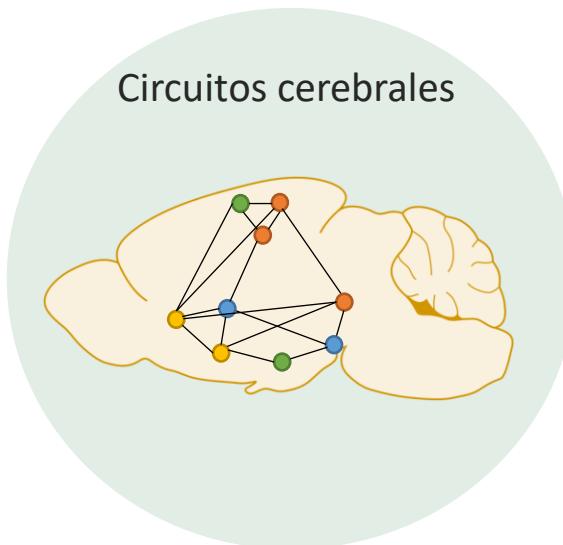
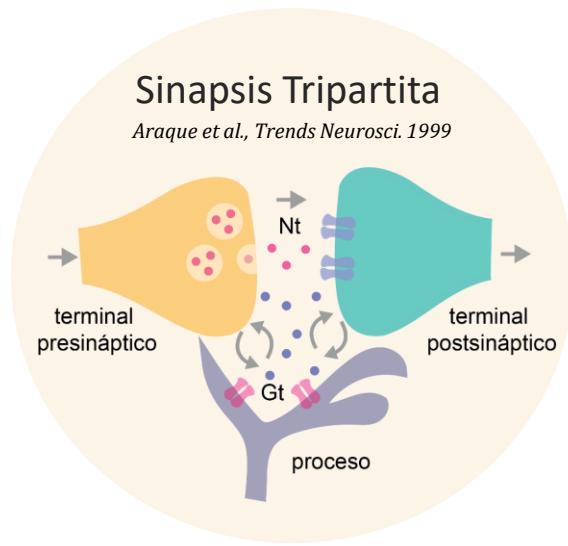


Santiago Ramón y Cajal. 1913

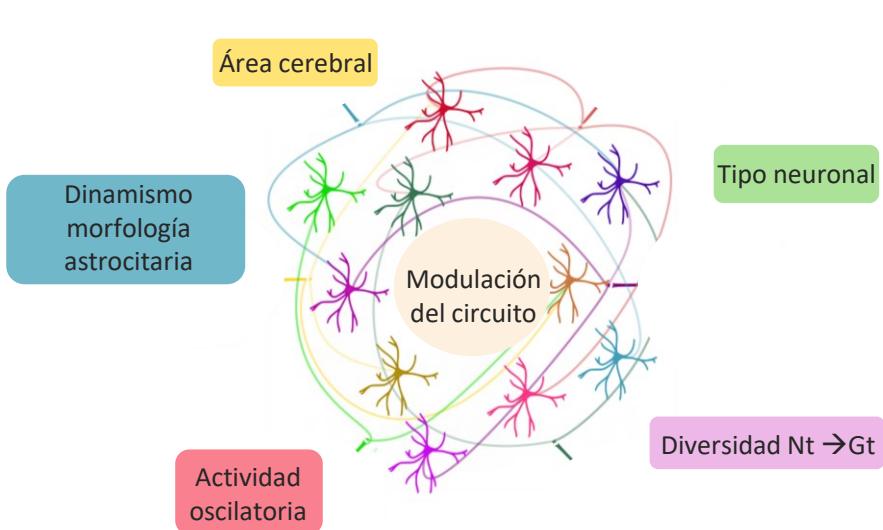


Chai et al., Neuron. 2017

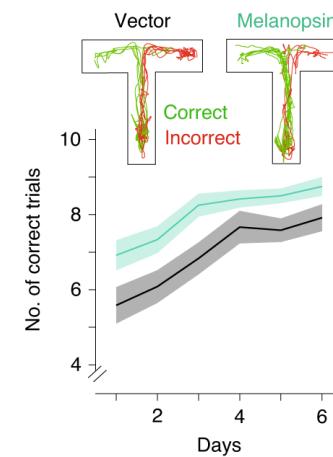




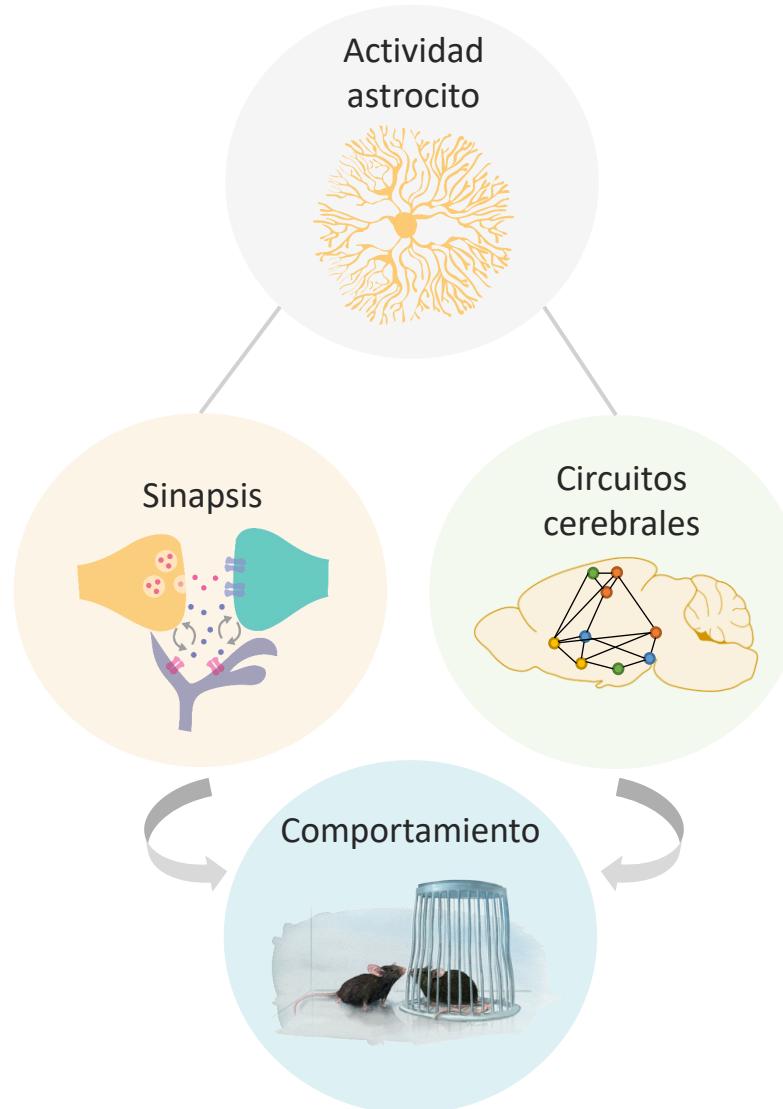
Perea y Araque. *Science*. 2007



Adaptado de Mederos et al., *Front Synaptic Neurosci*. 2018



Mederos et al., *Nat Neurosci*. 2021

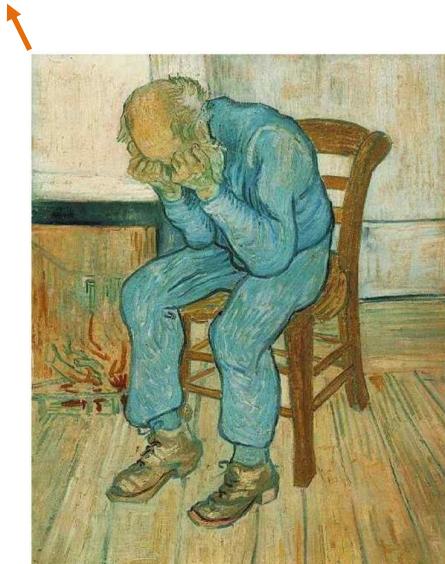




**Desorden psiquiátrico**

Alteraciones cognitivas y psicosociales

*Uekermann et al., J Int Neuropsychol Soc. 2008*



Trauernder alter  
Mann V. Van Gogh

**>280 millones de personas**

*World Health Organization, 2023*

**Gran impacto humano y económico**

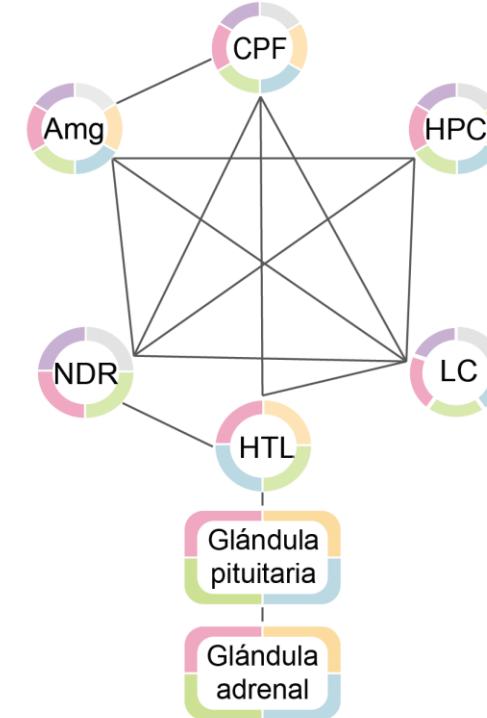
Alta prevalencia

(10-15% casos prevalece de por vida)

*Kessler et al., JAMA. 2003*

**Acción lenta y eficacia limitada de los tratamientos antidepresivos**

*Trivedi et al., N Engl J Med. 2006*

**Principales hipótesis etiológica del TD****Hiperexcitabilidad/ depresión**

Alteración niveles  
Glu, GABA, ACh, 5-HT, NA

**Alteración ciclos circadianos**

Alteración niveles:  
Orexina, melatonina, CRH,  
glucocorticoides, AVP  
ACTH, 5-HT, NA

**Inflamación**

Niveles elevados: **citoquinas pro-inflamatorias** y alterados:  
CRH, glucocorticoides, AVP, ACTH  
5-HT, NA, BDNF

**Alteración monoaminérgica**

Alteración niveles:  
5-HT, NA, DA, CRH

**Estrés crónico**

Alteración HPA:  
CRH, glucocorticoides  
AVP, ACTH, Orexina, BDNF

**Alteración factor neurotrófico**

Alteración niveles:  
BDNF, Glu, GABA, NA, 5-HT,  
citoquinas pro-inflamatorias,  
CRH, glucocorticoides, AVP, ACTH

*Westfall et al., Front Immunol. 2021*

*Nemeroff, Mol Psychiatry. 1996*

*Pariante y Lightman, Trends Neurosci. 2008*

*Edgar y McClung, BioEssays. 2013.*

*Drevets et al., Brain Struct and Funct. 2008*

*Woolley y Shaw, Proc Natl Acad Sci. 1954*

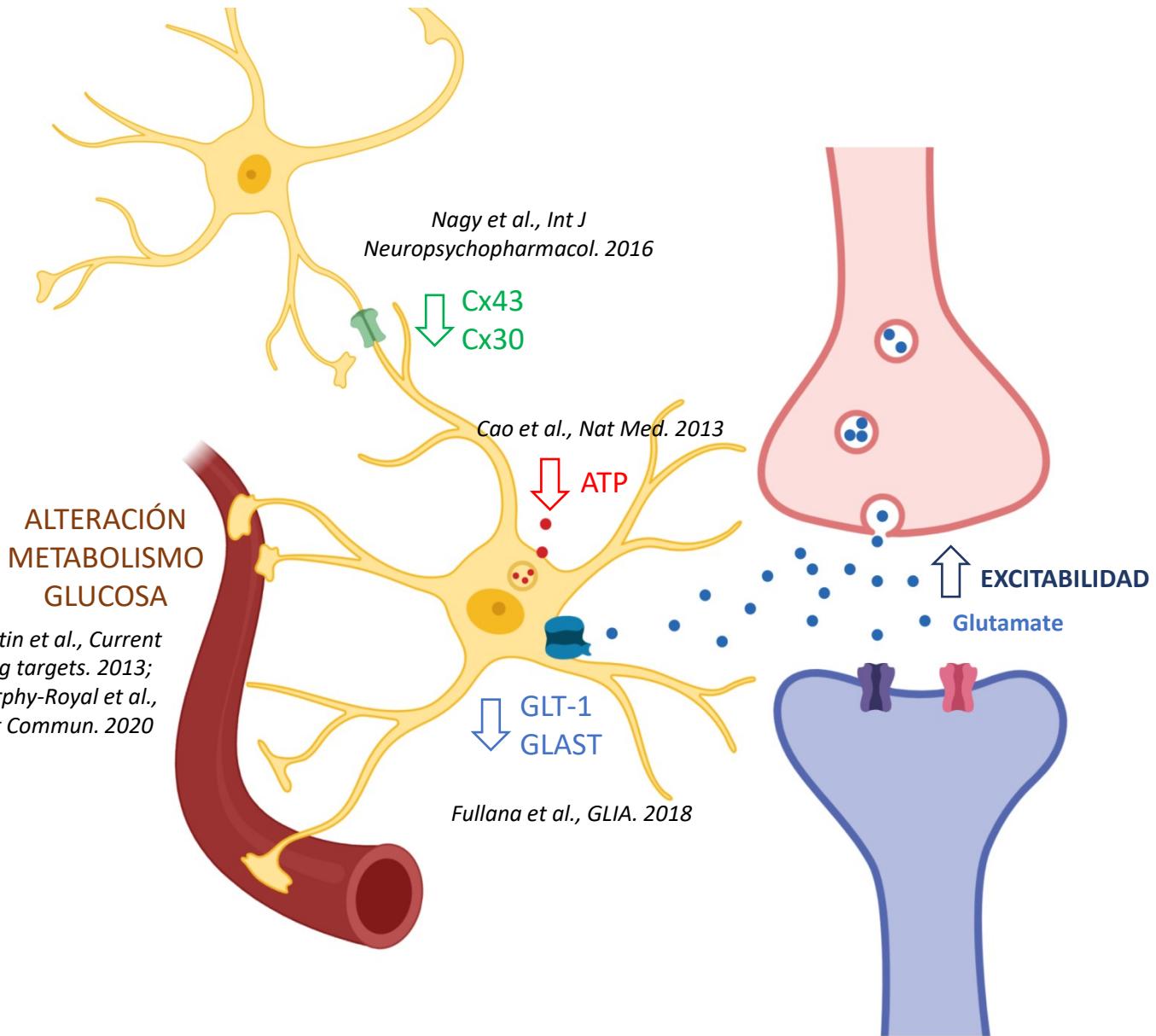
*Filatova et al., Cells. 2021*

*Kojima et al., Cell Tissue Res. 2019*

-Reducción del **número y densidad** de astrocitos en CPF (reducción en la expresión GFAP)

-Alteración de la **función** de los astrocitos en estructuras frontolímbicas (Wang *et al.*, GLIA, 2017 )

- Alteración de la homeostasis del glutamato
- Gliotransmisión anormal
- Disfunción conexiones tipo gap
- Alteración metabolismo de la glucosa



Estudio de las propiedades de la **comunicación bidireccional** entre **neuronas y astrocitos** en la CPFm y su relación con el **sistema serotoninérgico** en condiciones fisiológicas y patológicas, como el **trastorno depresivo (TD)**.

1. Análisis morfológico de los astrocitos de CPFm en condiciones control y en el TD.
2. Caracterización de las propiedades de la señalización de  $\text{Ca}^{2+}$  en astrocitos de CPFm espontánea e inducida por 5-HT, en condiciones control y en el TD.
3. Análisis del impacto de la señalización serotoninérgica sobre la plasticidad sináptica excitadora en neuronas de la capa 2/3 de CPFm, en condiciones control y en el TD.
4. Evaluación de las consecuencias de la manipulación selectiva de astrocitos de CPFm en el comportamiento animal.

# MATERIALES Y MÉTODOS

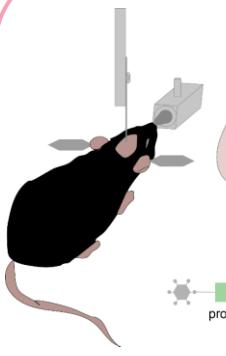
## Animales



C57BL/6  
*Ip3r2*<sup>-/-</sup>  
*Aldh1/1-eGFP*  
*htr2a*<sup>-/-</sup>

1-5 meses

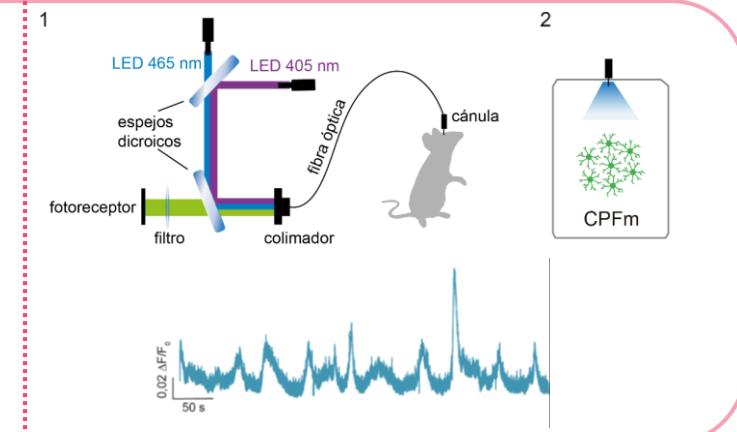
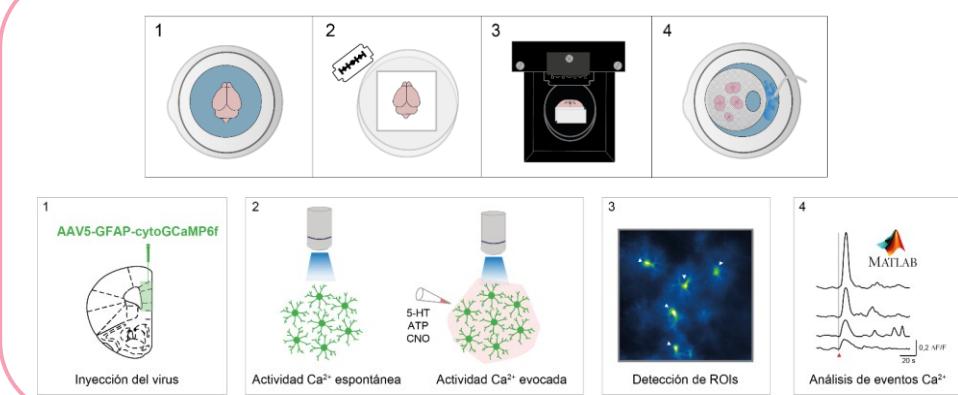
## Infecciones virales



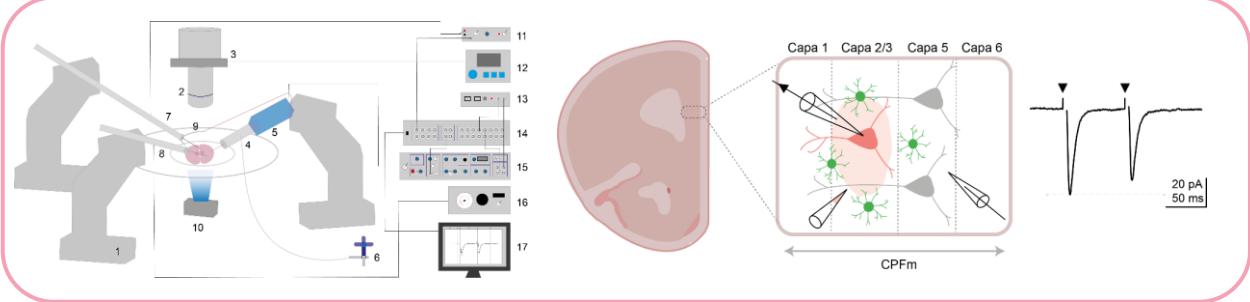
**CPFm**  
L:  $\pm 0.3$  mm  
AP: +1,78 mm  
DV: -2,5 a -1 mm  
**NDR**  
L: 1,1 mm  
AP: y'0.98  
DV: -3,3 a -2,8 mm

promotor gen de interés reportero

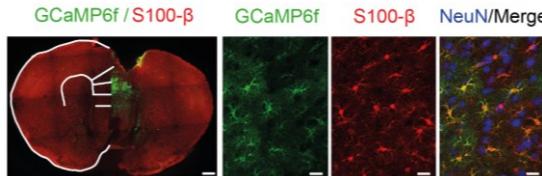
## Registros imagen de $\text{Ca}^{2+}$ *ex vivo* e *in vivo*



## Registros electrofisiológicos *ex vivo*



## Técnicas inmunohistológicas



## Análisis de datos

OXFORD  
INSTRUMENTS

IMARIS

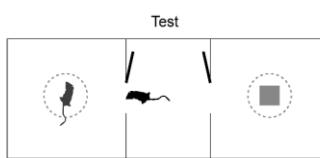
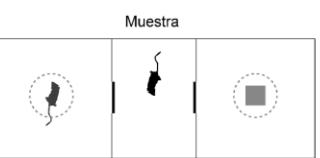
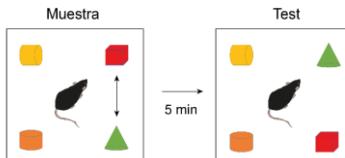
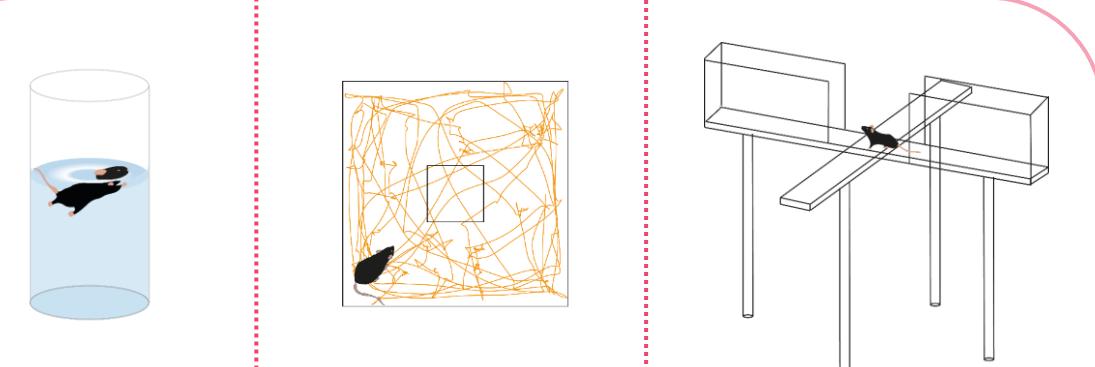


MATLAB<sup>®</sup>

Prism

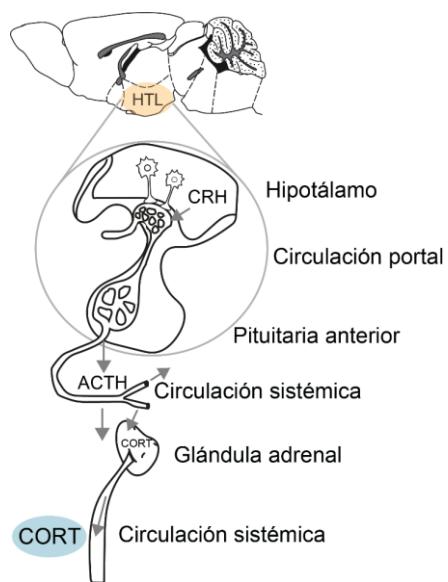
SIGMAPLOT<sup>®</sup>  
Exact Graphics and Data Analysis

## Pruebas comportamentales



# MODELO MURINO DE TRASTORNO DEPRESIVO (TD)

eje HPA



p30

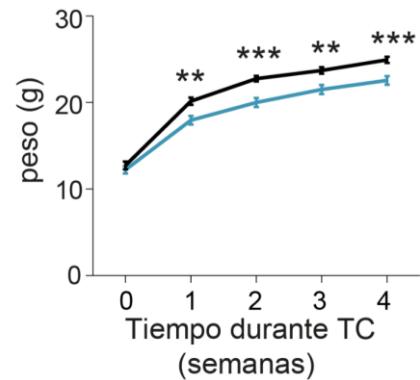
Tratamiento Corticosterona (TC)

30 µg/mL 15 µg/mL 7.5 µg/mL

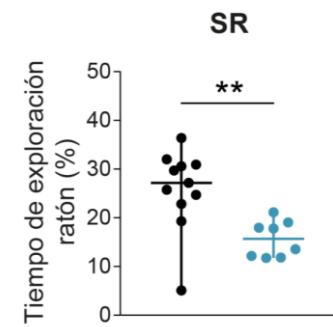
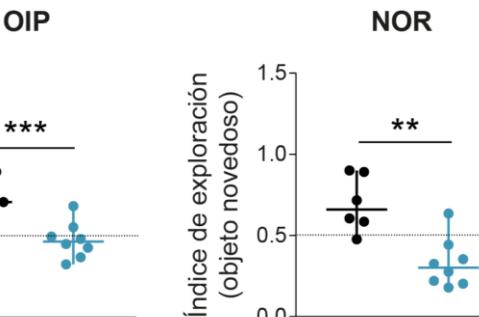
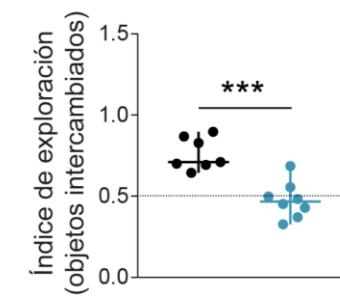
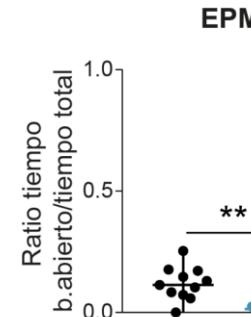
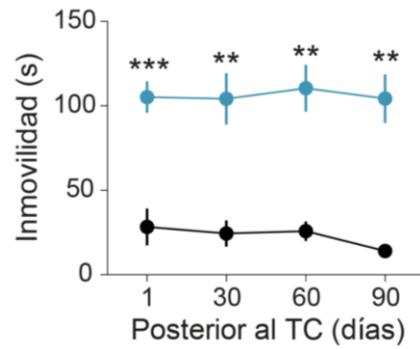
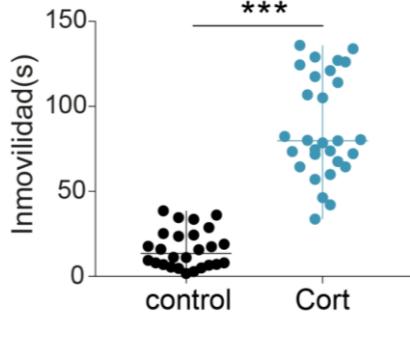
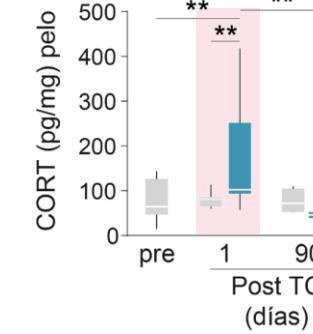
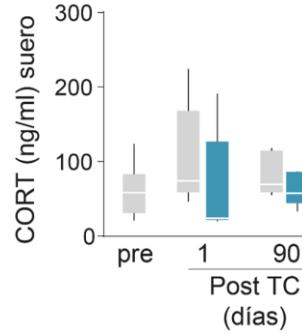
test

1 15 18 28 días

control Cort



↓  
H<sub>2</sub>O  
TC 30 µg/ml 15 µg/ml 7.5 µg/ml  
pre 1 90 días



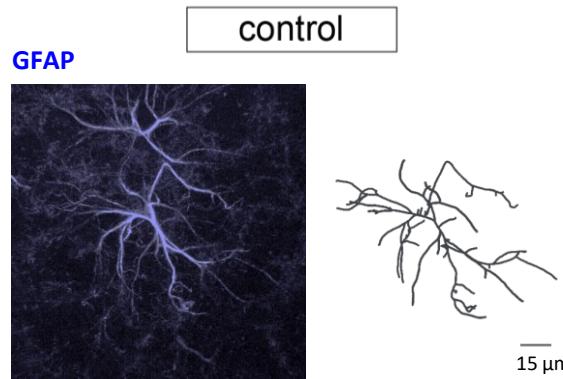
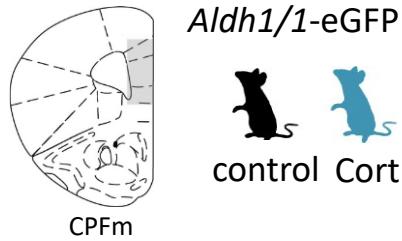
Desesperanza

Ansiedad

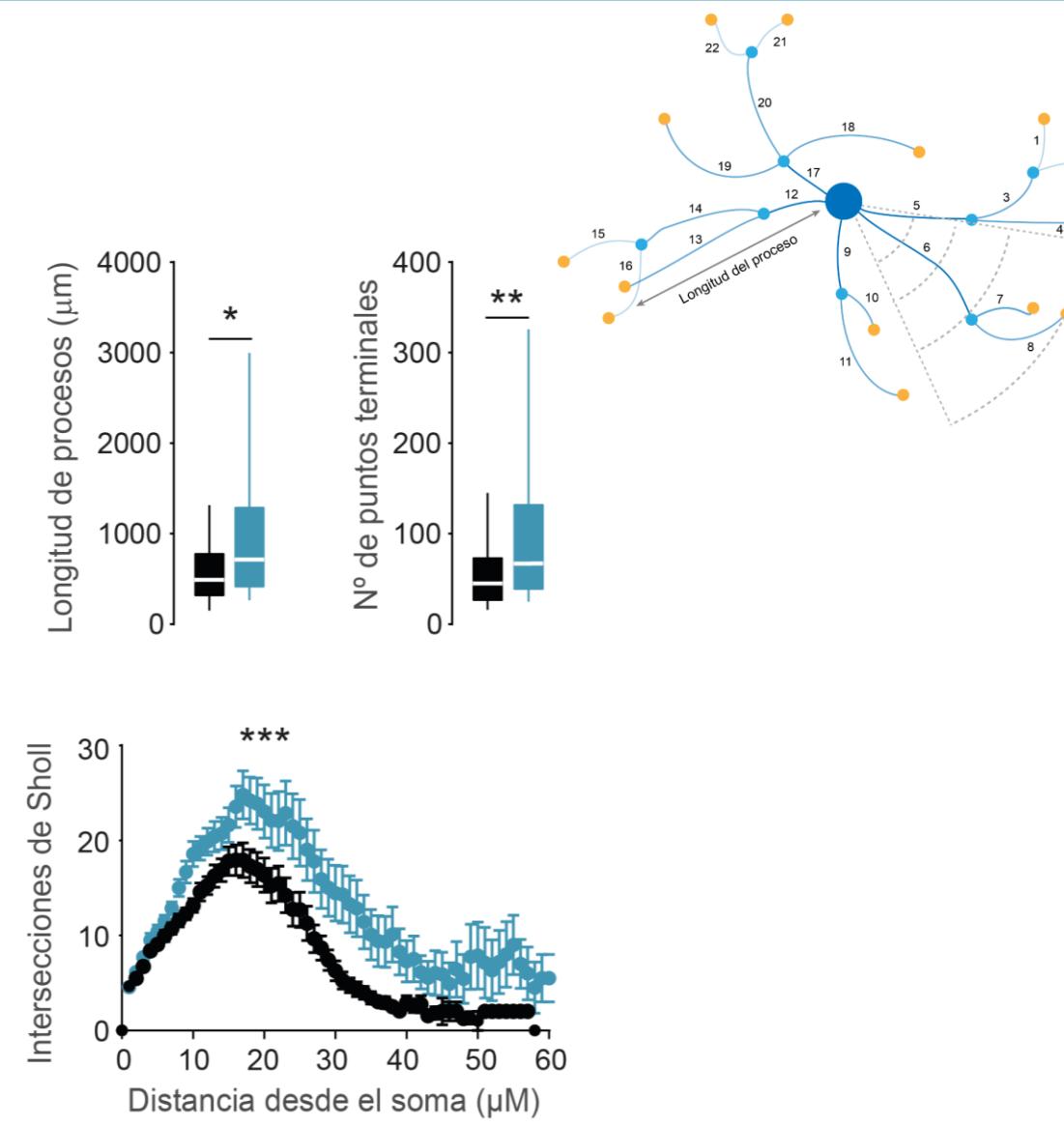
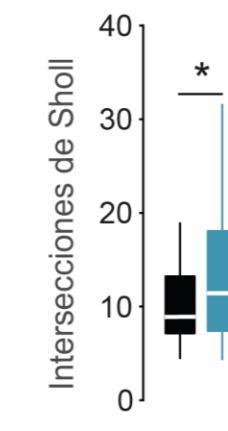
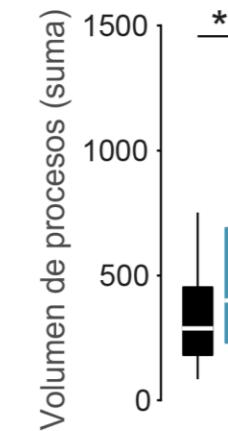
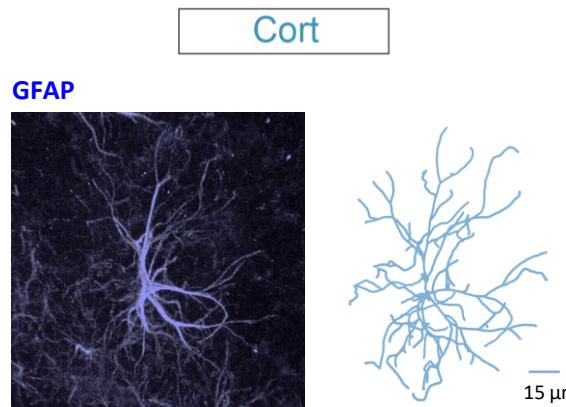
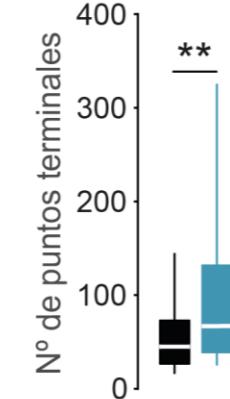
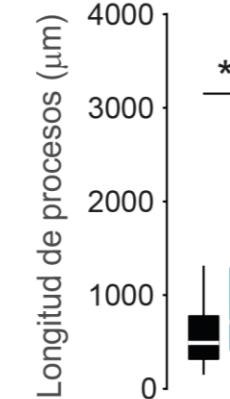
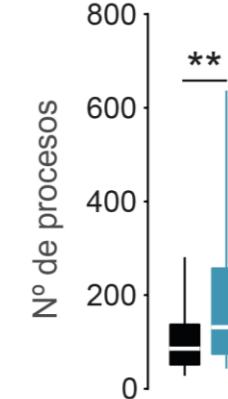
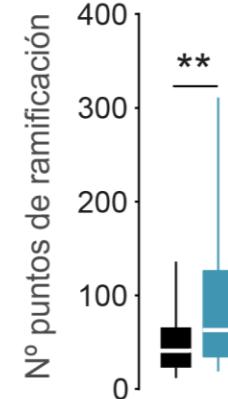
Disfunción cognitiva

Pérdida interés social

Gourley y Taylor, Current Protocols Neuroscience.2009  
 Levinstein y Samuels, Front Behav Neurosci. 2014  
 Ferrés-Coy et al., Mol Psychiatry. 2015  
 Dieterich et al., Transl Psychiatry. 2019  
 Bertholomey et al., Front Behav Neurosci 2022

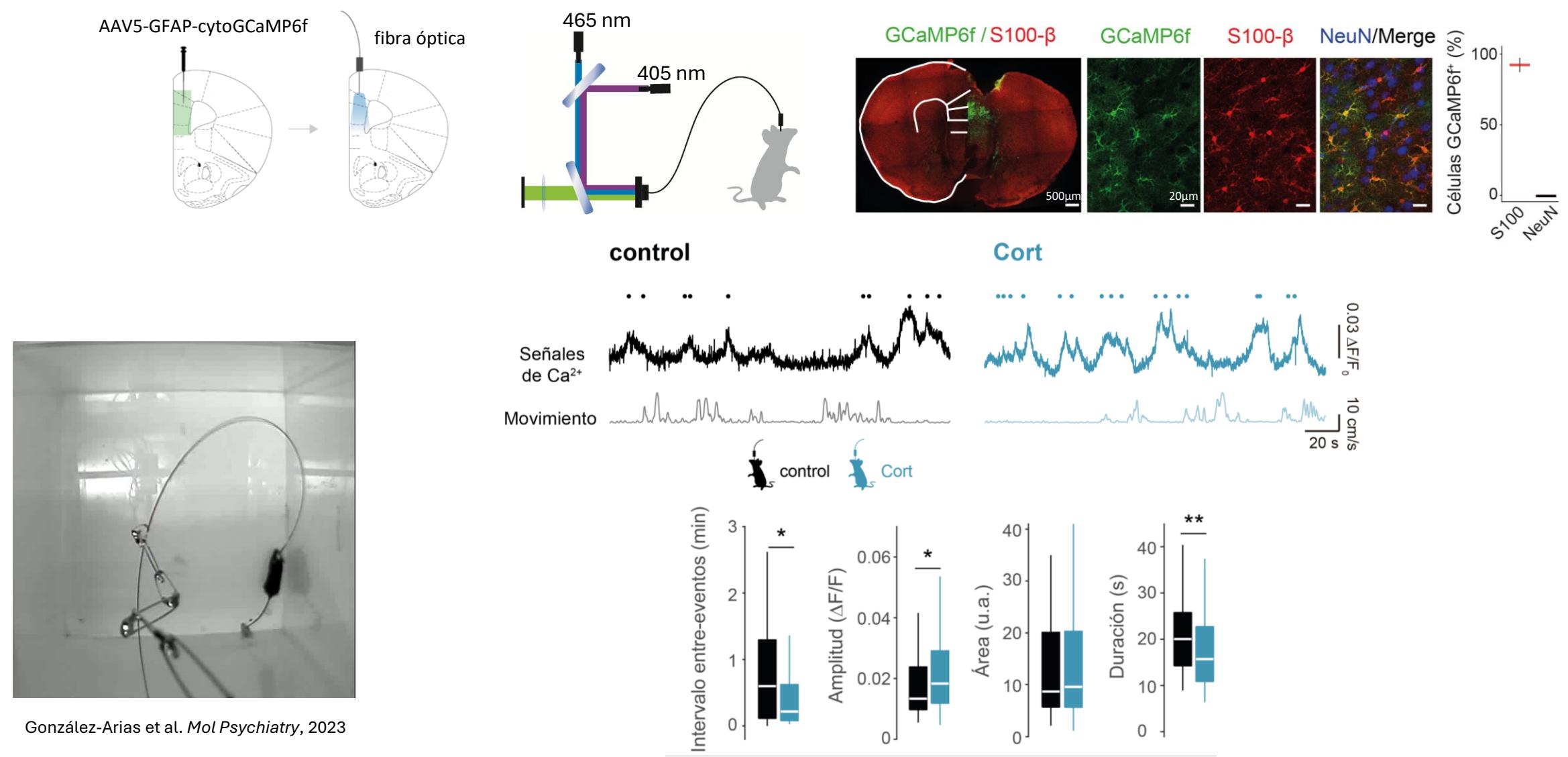


■ control ■ Cort



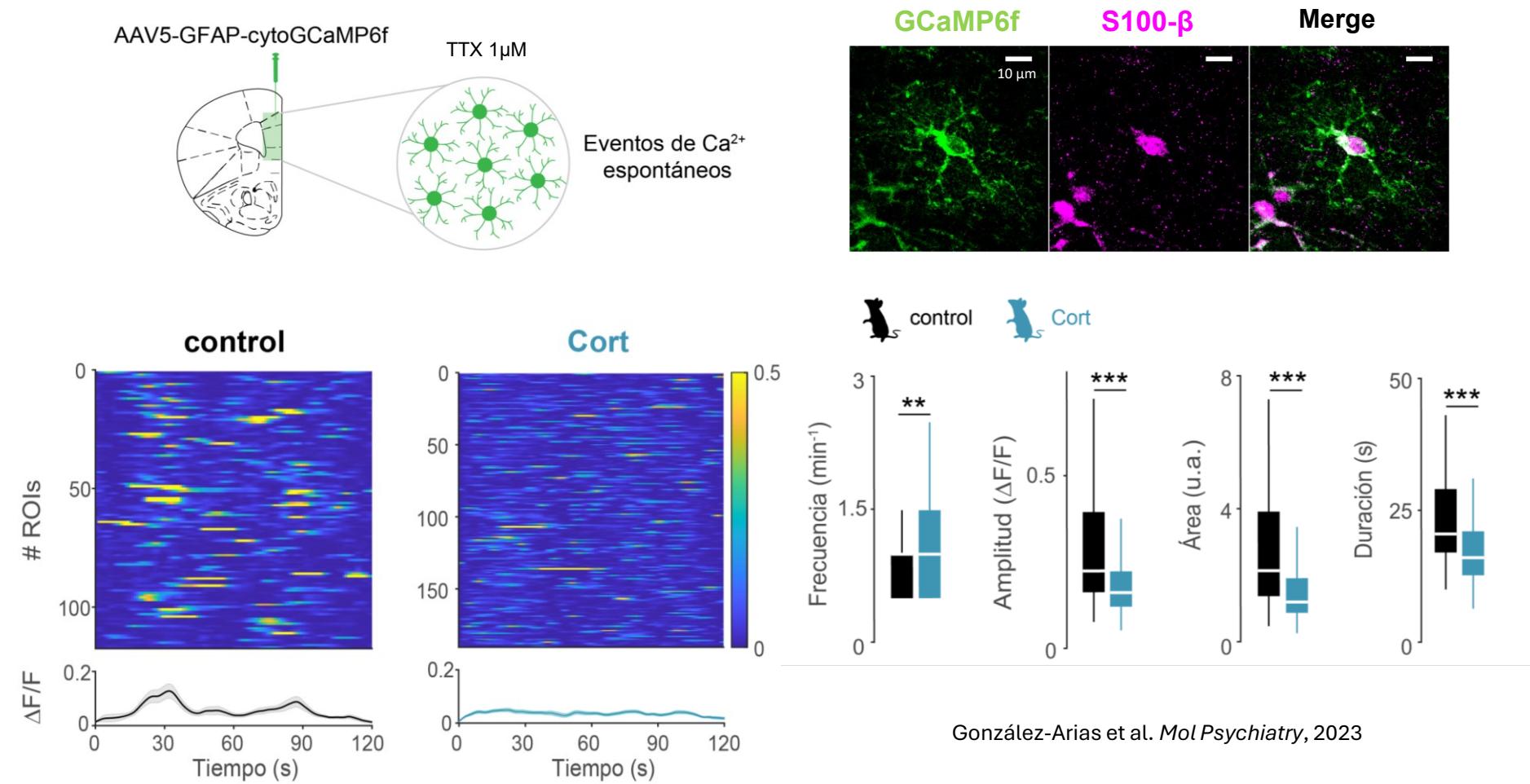
El TD induce un aumento de la complejidad anatómica de los astrocitos de CPFm

## Registros actividad $\text{Ca}^{2+}$ en astrocitos *in vivo*



El tratamiento con corticosterona altera la actividad de  $\text{Ca}^{2+}$  a nivel poblacional en astrocitos de CPFm

Registros actividad  $\text{Ca}^{2+}$  en astrocitos *ex vivo*



El tratamiento con corticosterona altera la actividad de  $\text{Ca}^{2+}$  a nivel de célula individual en astrocitos de CPFm

## RESULTADOS

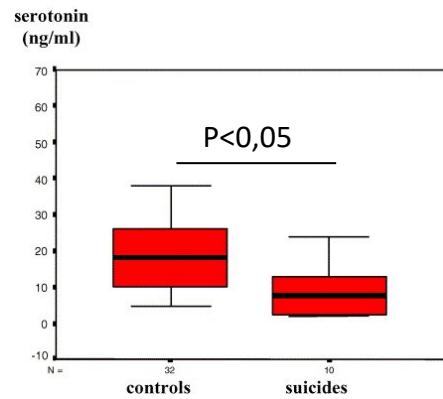
## 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LA SEÑALIZACIÓN DE CA<sup>2+</sup> INDUCIDA POR 5-HT EN ASTROCITOS DE CPFm EN CONDICIONES CONTROL Y EN EL TD

TD

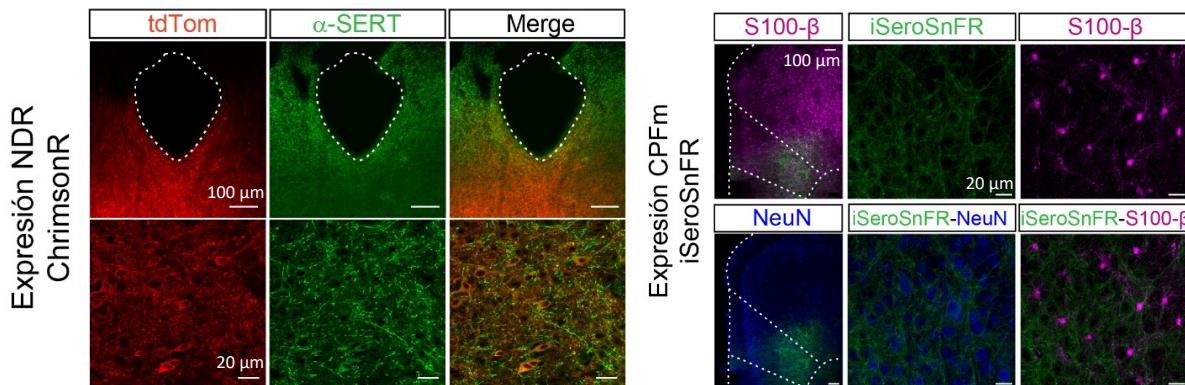
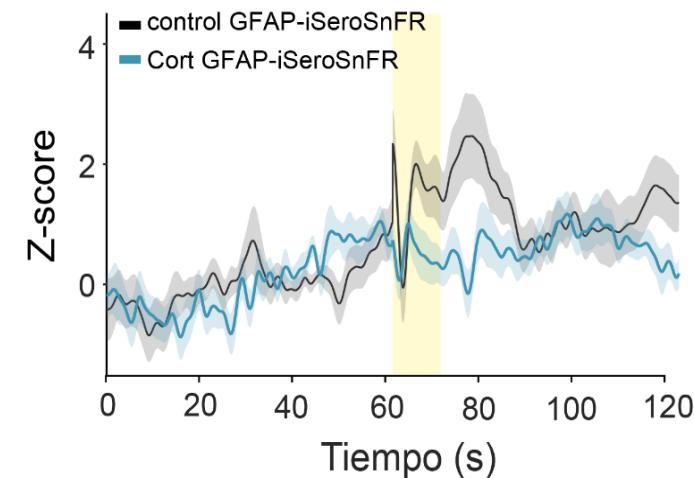
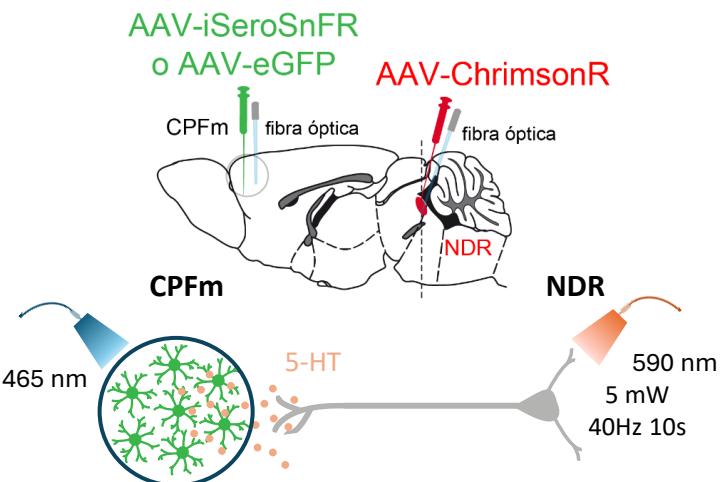
5-HT levels

Metabolites	N MDD/CON	SMD (95% CI)	p value
Serotonin	144/184	-0.26 (-0.76 to 0.23)	0.001
L-Tryptophan	2390/2928	-0.46 (-0.66 to -0.26)	<0.001

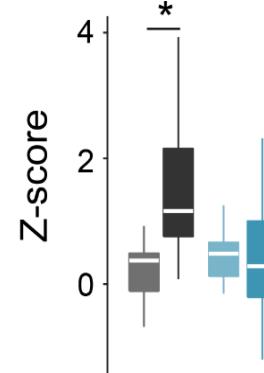
Pu et al., Mol Psychiatry. 2021



Musshoff et al., Forensic Sci Int. 2004



■ basal  
■ estímulo NDR



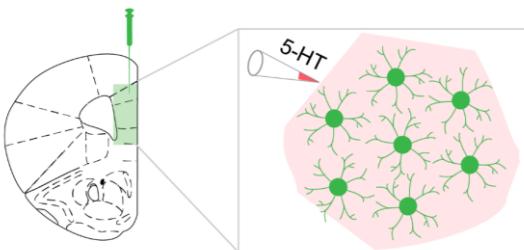
González-Arias et al. Mol Psychiatry, 2023

El tratamiento con Cort induce una reducción en la liberación de 5-HT en CPFm

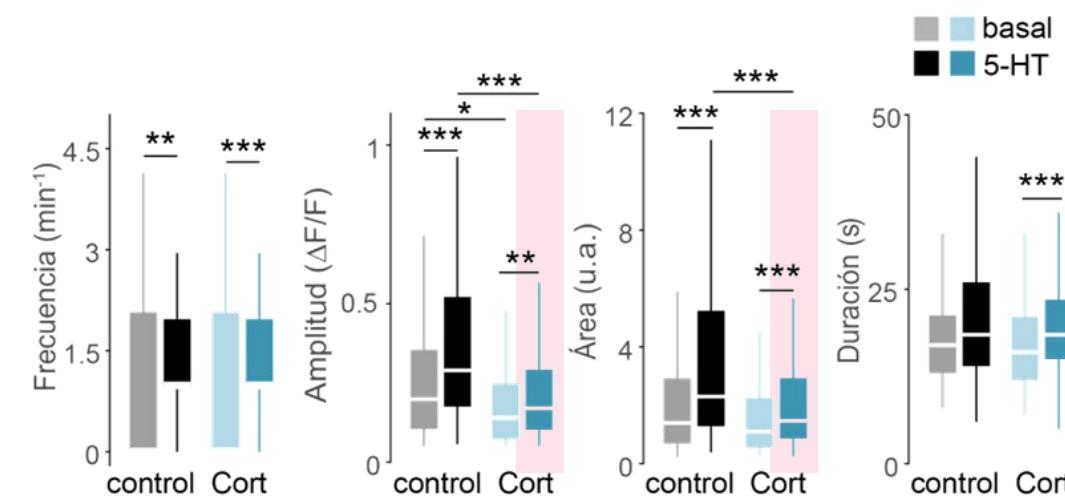
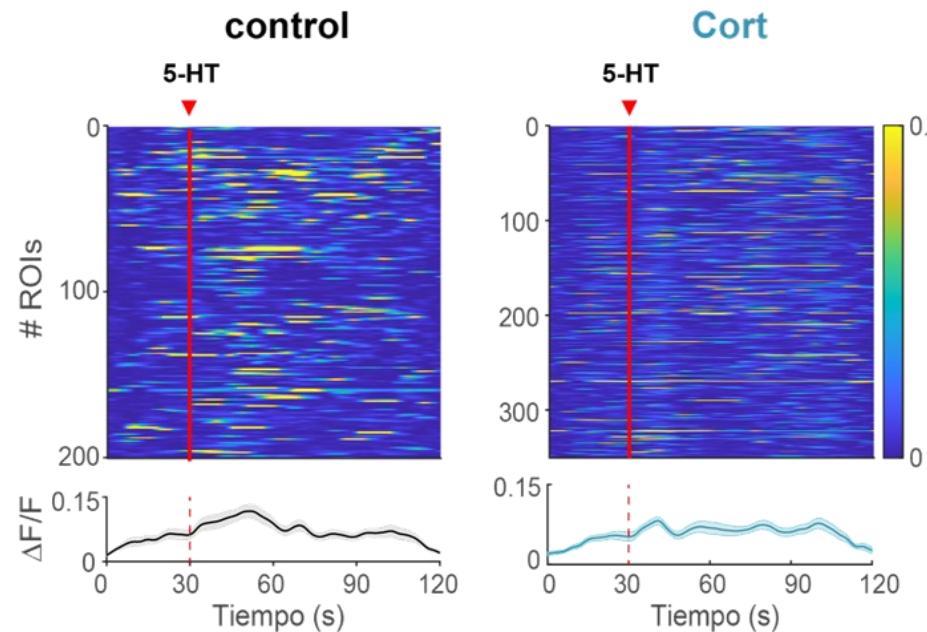
## RESULTADOS

## 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LA SEÑALIZACIÓN DE $Ca^{2+}$ INDUCIDA POR 5-HT EN ASTROCITOS DE CPFm EN CONDICIONES CONTROL Y EN EL TD

AAV5-GFAP-cytoGCaMP6f Eventos de  $Ca^{2+}$  evocados



TTX 1  $\mu$ M  
Picrotoxina 50  $\mu$ M  
CGP 55845 5  $\mu$ M  
AM251 2  $\mu$ M  
MRS2179 10  $\mu$ M  
LY367385 100  $\mu$ M



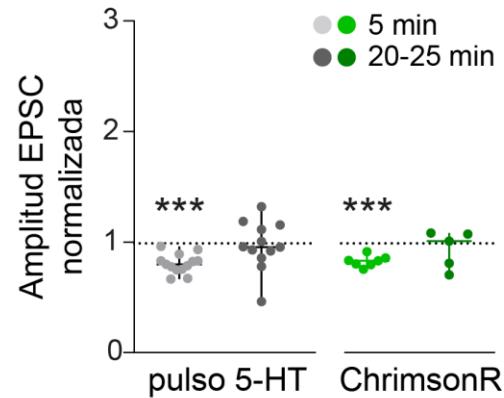
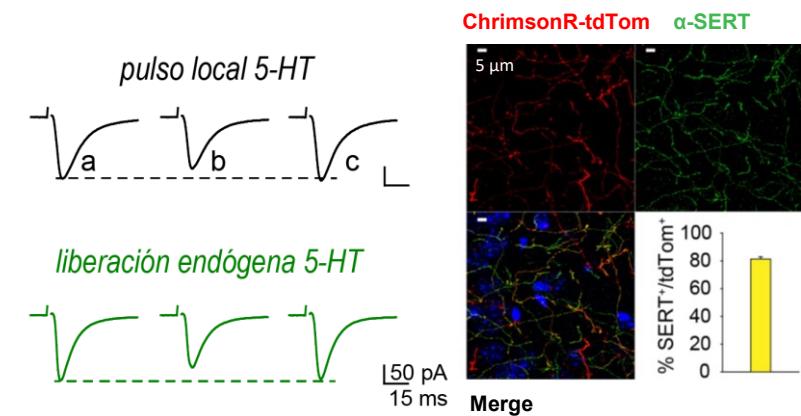
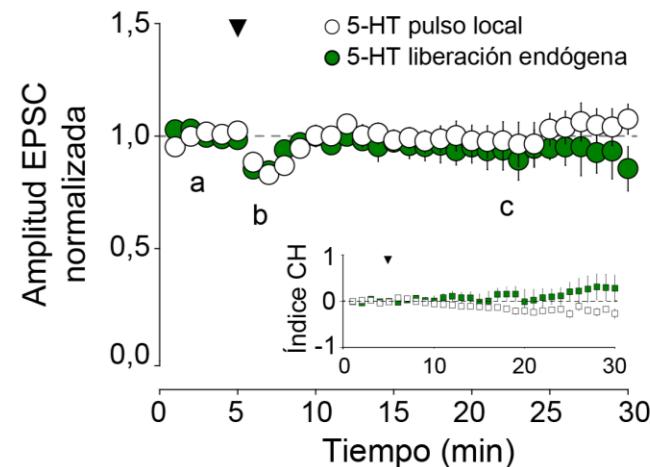
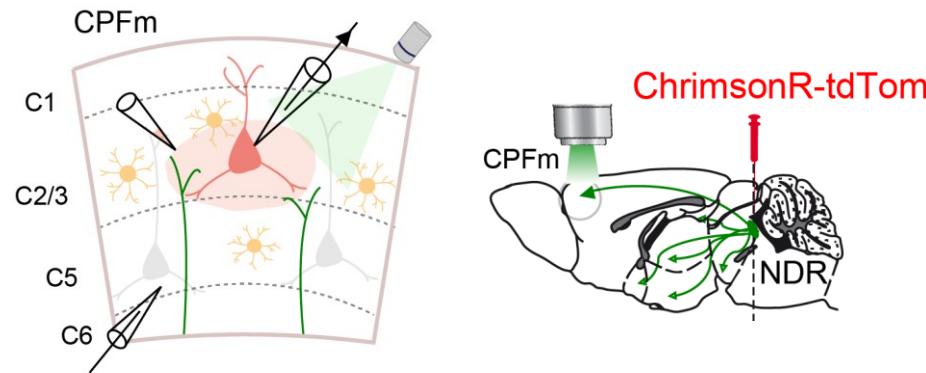
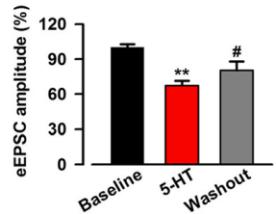
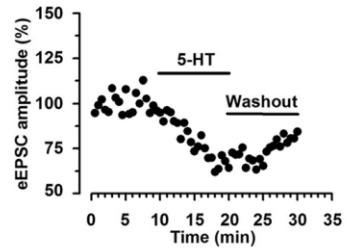
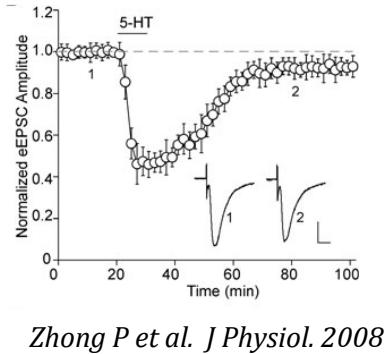
González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

Los astrocitos son sensibles a la señalización por 5-HT

La señalización de  $Ca^{2+}$  inducida por 5-HT en astrocitos está alterada en un modelo de TD

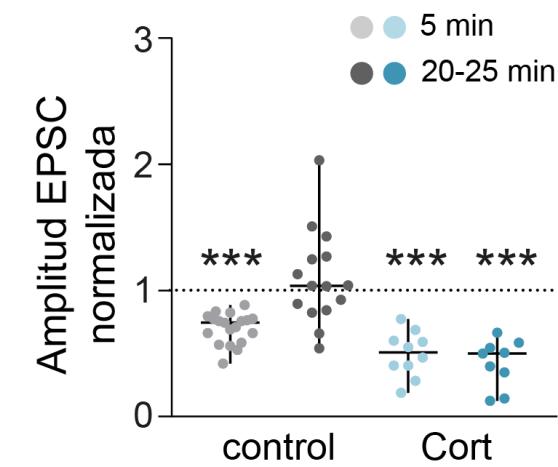
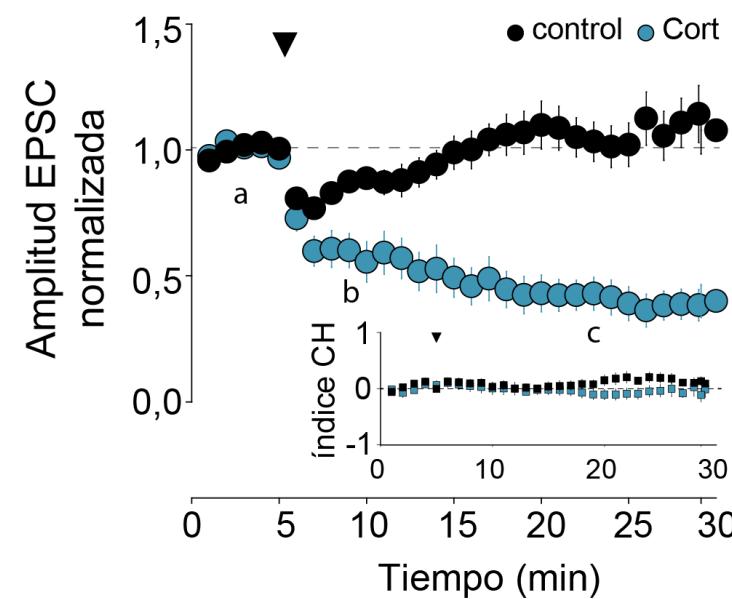
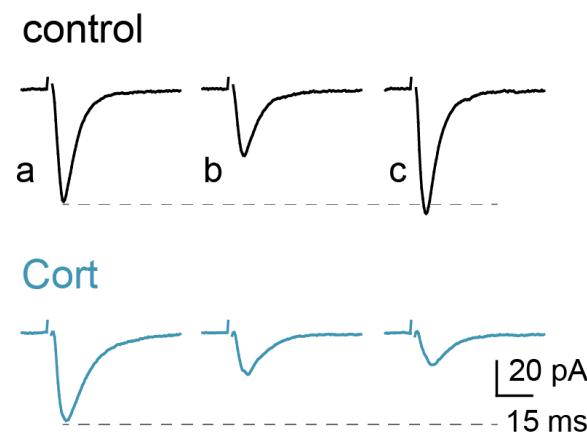
## RESULTADOS

### 3. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA SEÑALIZACIÓN SEROTONINÉRGICA SOBRE LA PLASTICIDAD SINÁPTICA EXCITADORA EN NEURONAS DE LA CAPA 2/3 DE CPFm EN CONDICIONES CONTROL Y EN EL TD



González-Arias et al. Mol Psychiatry, 2023

5-HT deprime de forma transitoria la transmisión sináptica excitadora en neuronas de capa 2/3 de CPFm

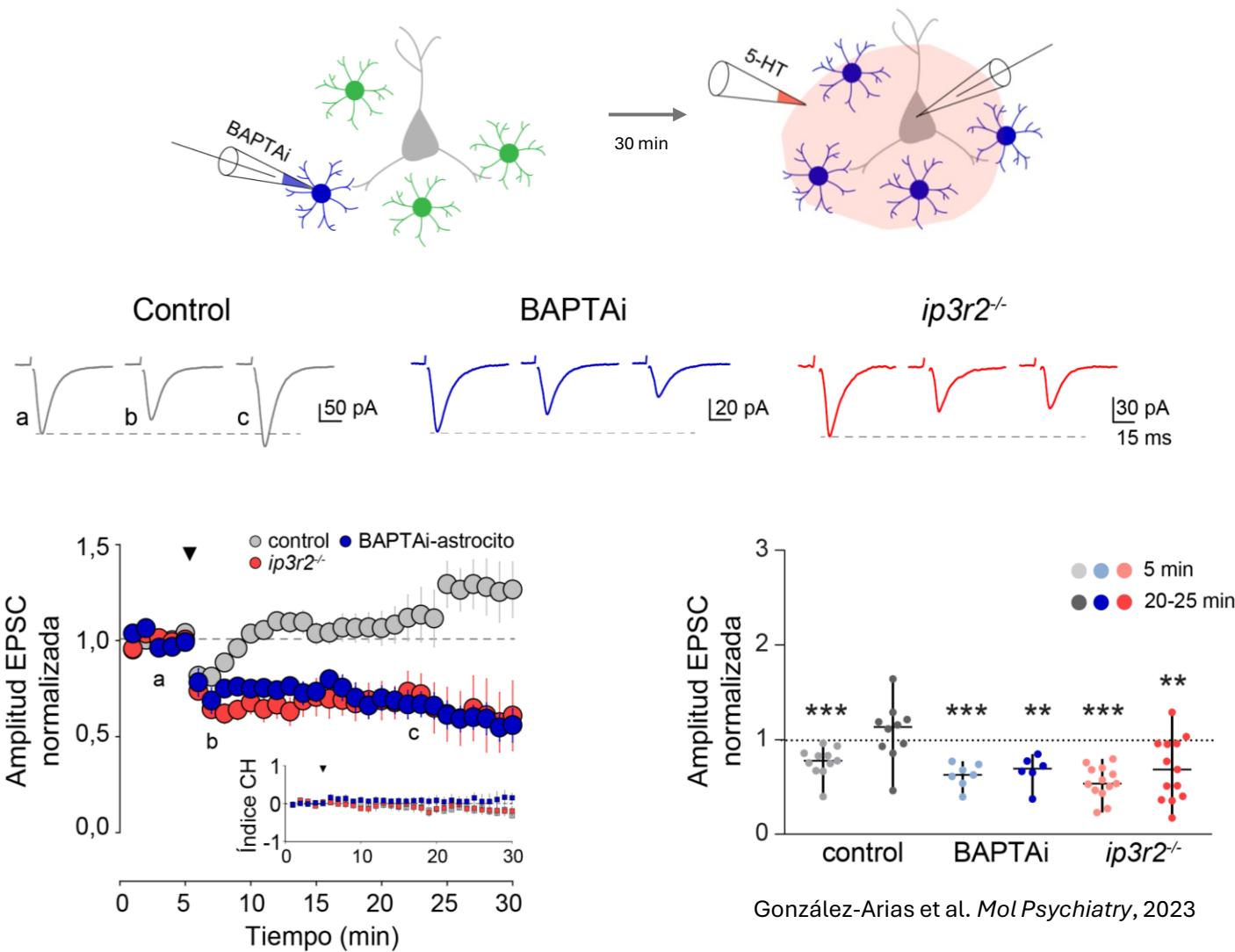
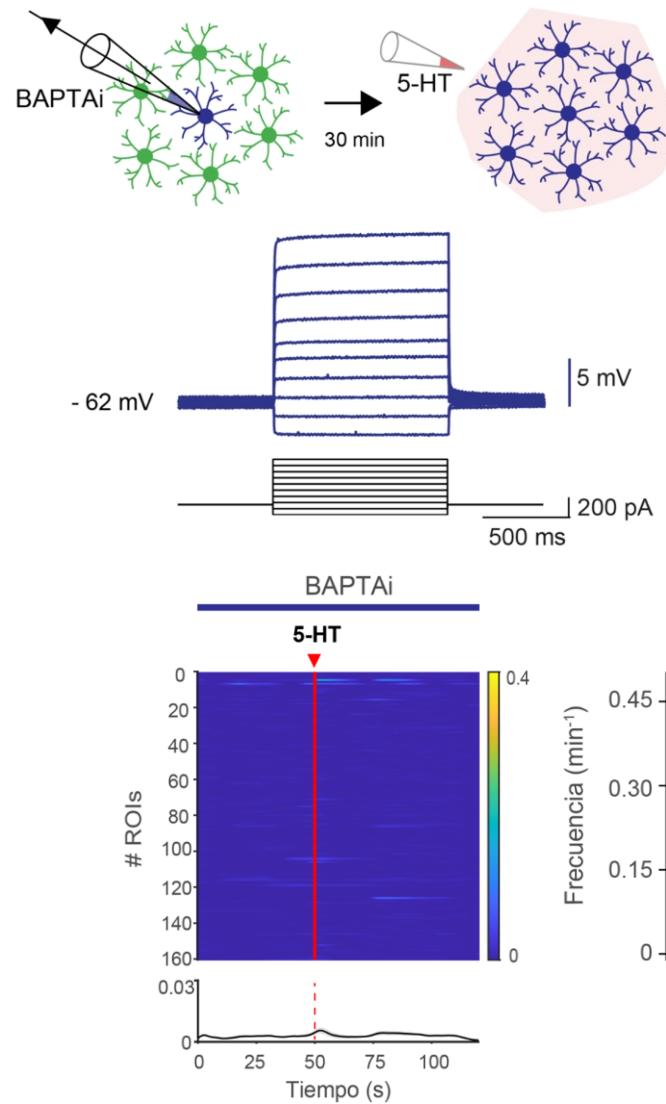


González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

La plasticidad sináptica evocada por 5-HT está alterada en la CPFm de ratones Cort

## RESULTADOS

### 3. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA SEÑALIZACIÓN SEROTONINÉRGICA SOBRE LA PLASTICIDAD SINÁPTICA EXCITADORA EN NEURONAS DE LA CAPA 2/3 DE CPFm EN CONDICIONES CONTROL Y EN EL TD

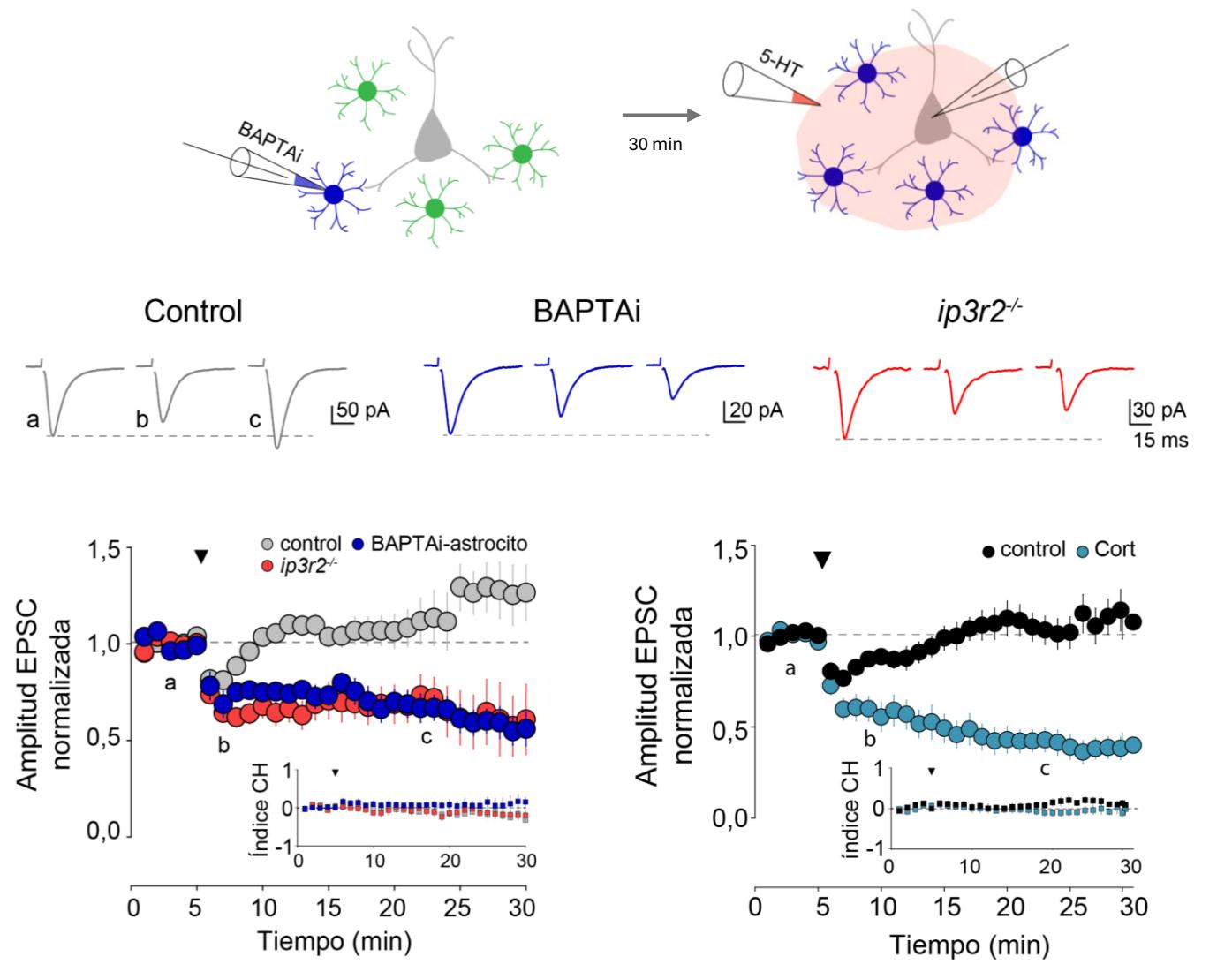
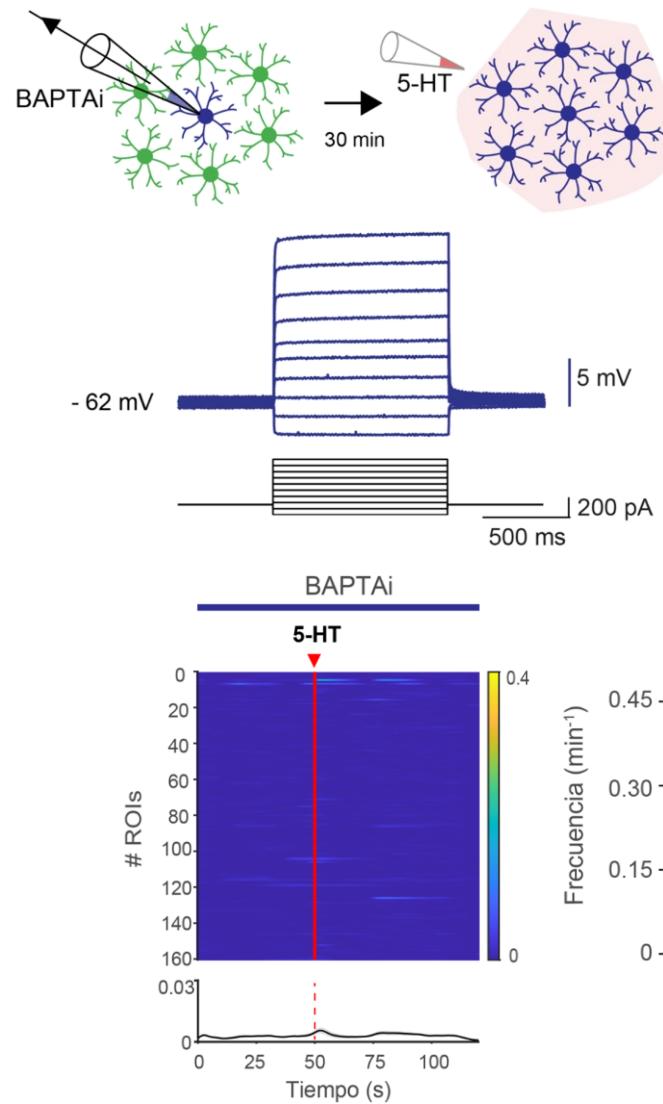


González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

Los astrocitos de capa 2/3 de CPFm participan en la plasticidad sináptica inducida por 5-HT

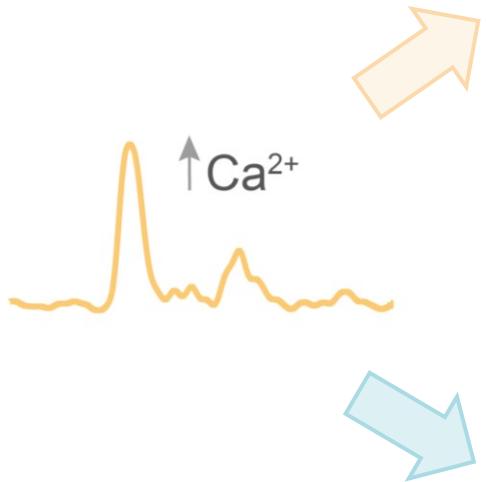
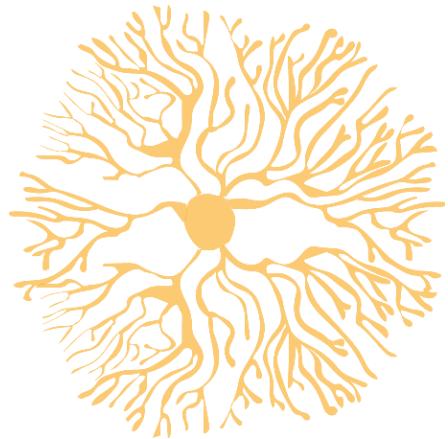
## RESULTADOS

### 3. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA SEÑALIZACIÓN SEROTONINÉRGICA SOBRE LA PLASTICIDAD SINÁPTICA EXCITADORA EN NEURONAS DE LA CAPA 2/3 DE CPFm EN CONDICIONES CONTROL Y EN EL TD



González-Arias et al. Mol Psychiatry, 2023

Los astrocitos de capa 2/3 de CPFm participan en la plasticidad sináptica inducida por 5-HT



Plasticidad sináptica



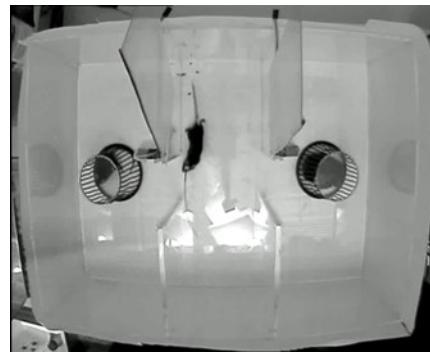
Comportamiento

**Los astrocitos participan de la plasticidad sináptica mediada por 5HT**

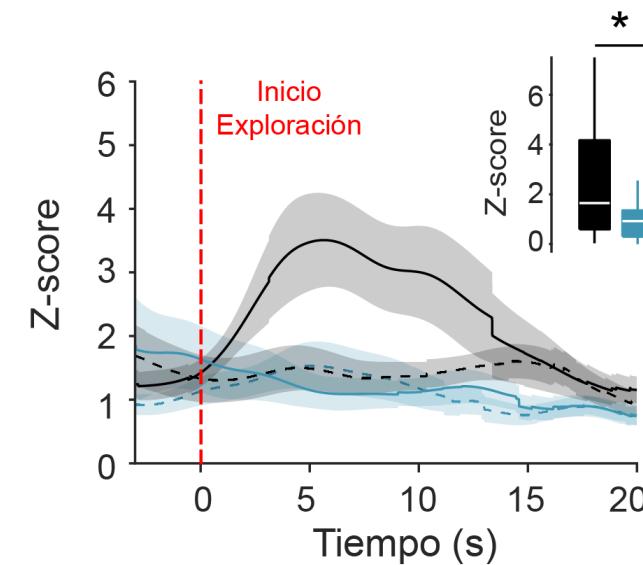
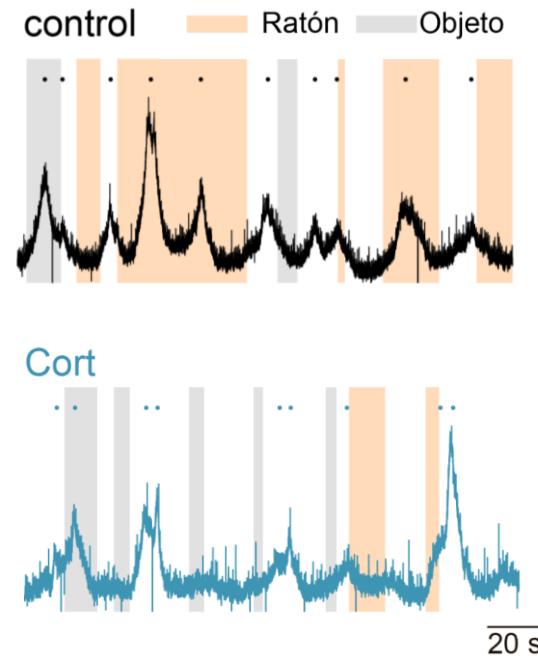
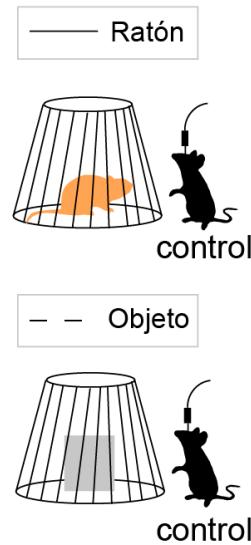
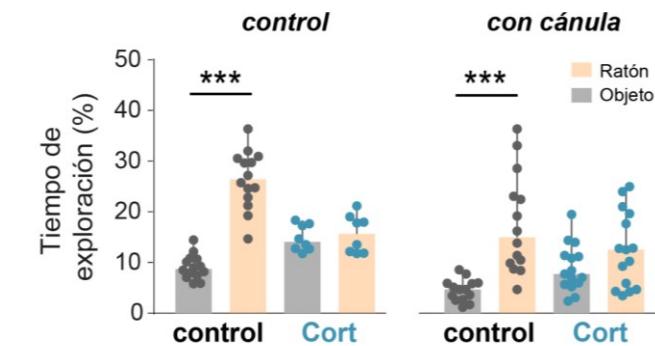
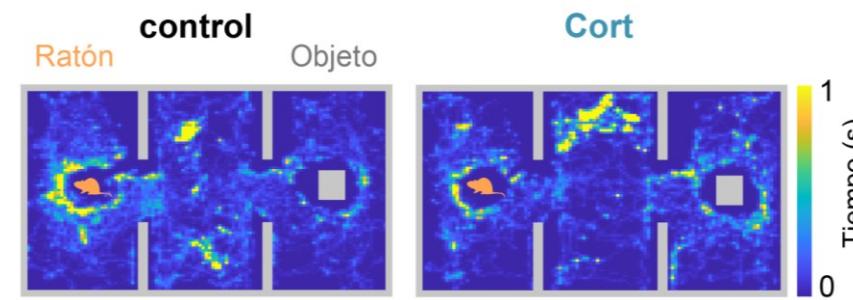
**Impacto de la activación astrocitaria sobre las respuestas comportamentales**

## RESULTADOS

### 4. EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE LA MANIPULACIÓN SELECTIVA DE ASTROCITOS DE CPFm EN EL COMPORTAMIENTO ANIMAL



Test de reconocimiento social

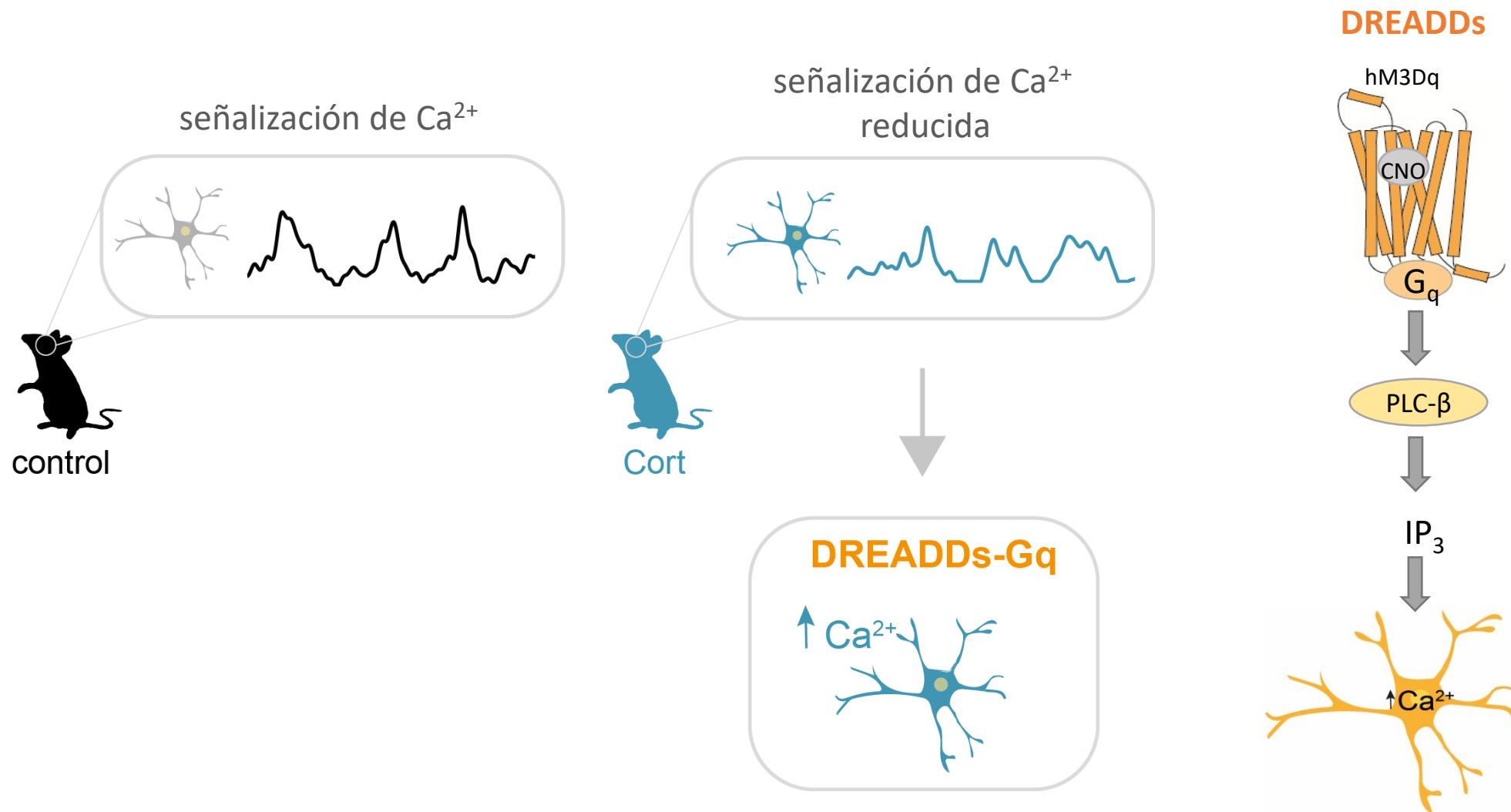


González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

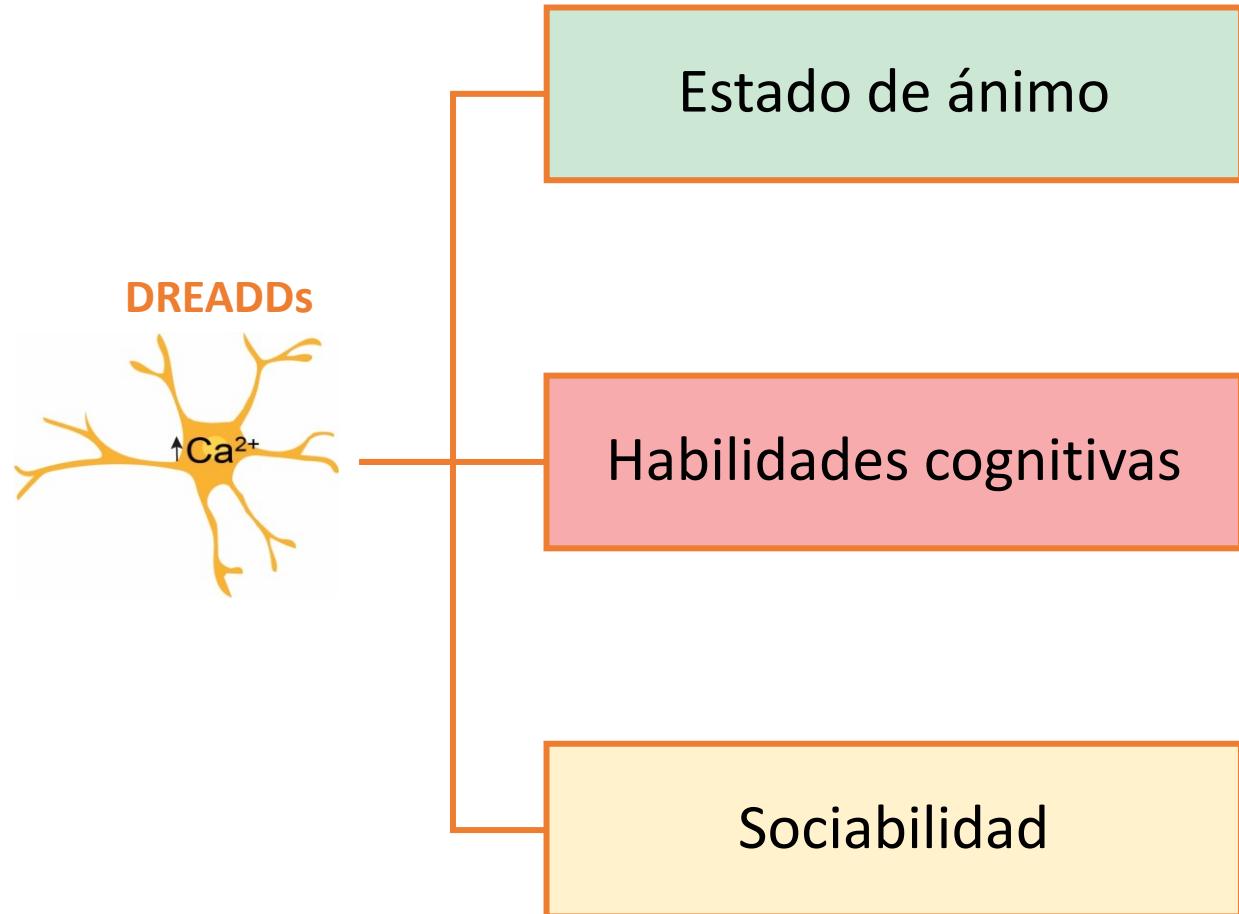
El tratamiento con Cort induce una reducción de la magnitud de la actividad de  $\text{Ca}^{2+}$  durante el reconocimiento social

# MANIPULACIÓN SELECTIVA DE LA SEÑALIZACIÓN DE CALCIO EN LOS ASTROCITOS: DREADDS

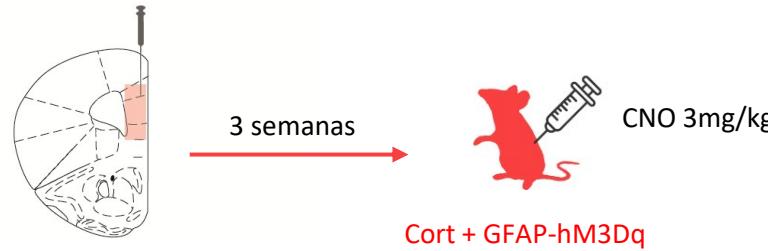
*(Designer receptors exclusively activated by designer drugs)*



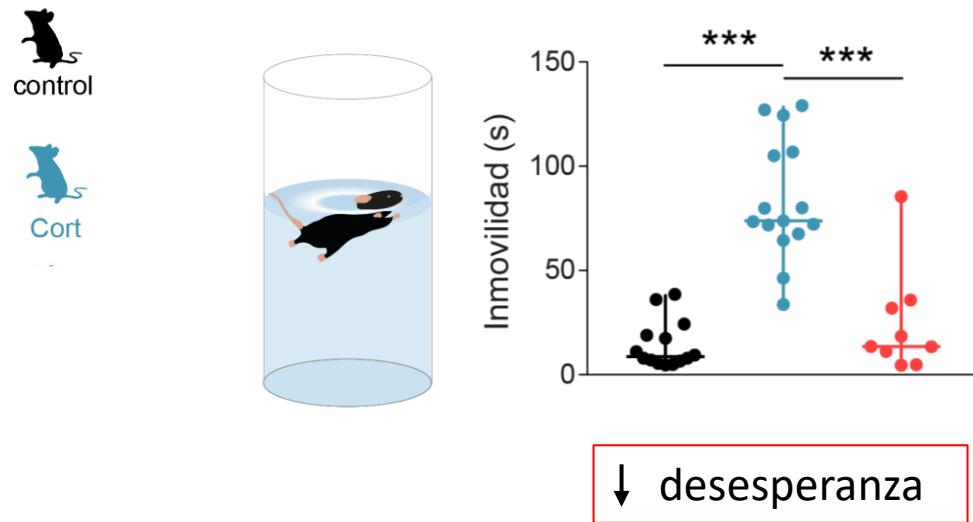
# Impacto de la activación astrocitaria sobre las respuestas comportamentales



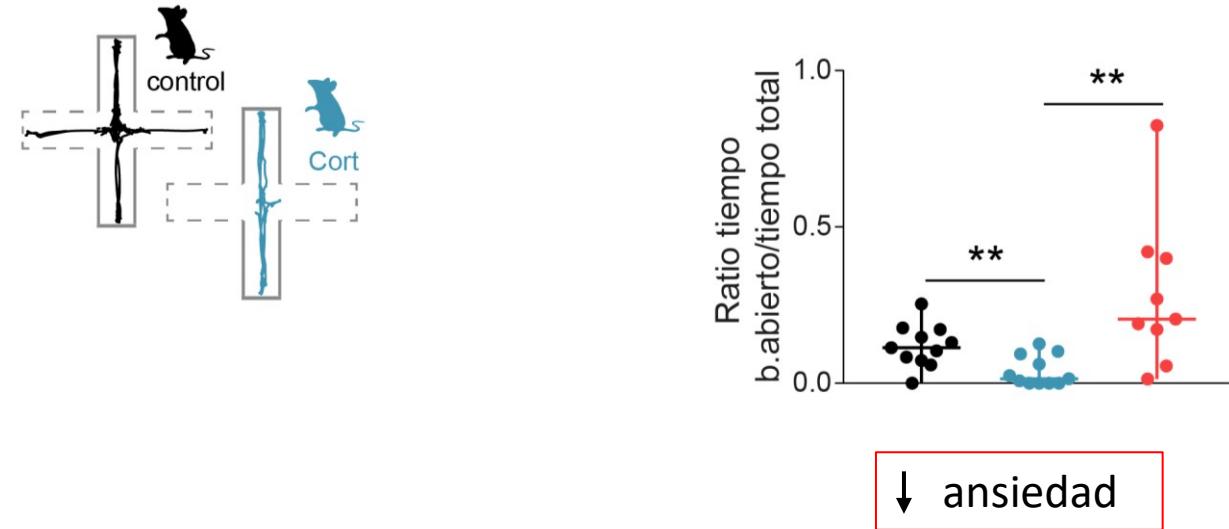
AAV5-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry



Test de natación forzada (FST)



Test del laberinto en cruz elevado (EPM)

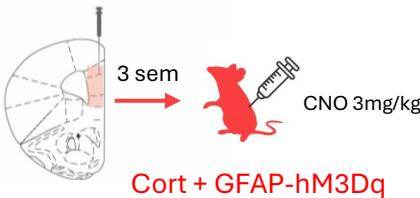
González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

La activación selectiva de astrocitos de CPFm en ratones Cort reduce los niveles de desesperanza y ansiedad a niveles control

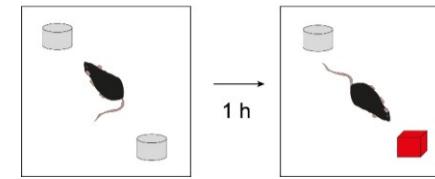
## RESULTADOS

### 4. EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE LA MANIPULACIÓN SELECTIVA DE ASTROCITOS DE CPFm EN EL COMPORTAMIENTO ANIMAL

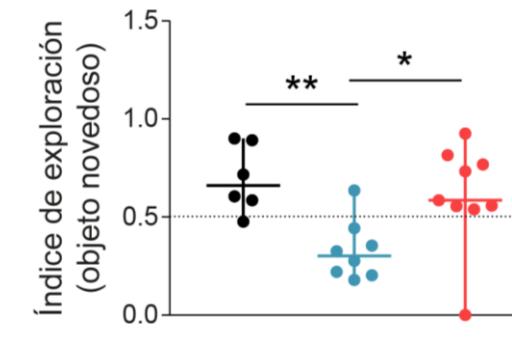
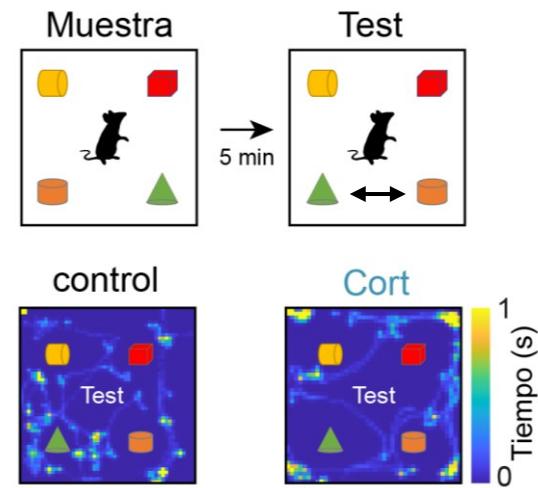
AAV5-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry



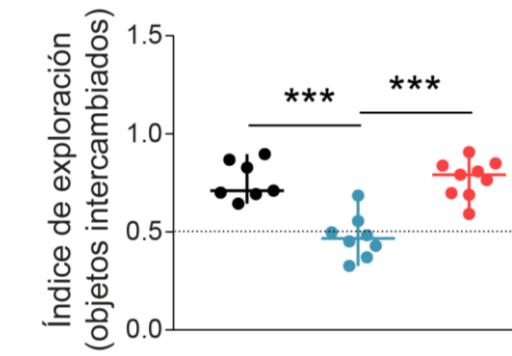
#### Reconocimiento de objeto novedoso (NOR)



#### Localización de objetos (OIP)



Mejora déficits cognitivos



González-Arias et al. Mol Psychiatry, 2023

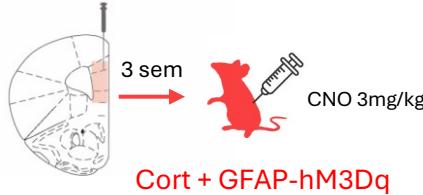
La activación selectiva de astrocitos de CPFm potencia la memoria de trabajo en ratones Cort



## RESULTADOS

### 4. EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE LA MANIPULACIÓN SELECTIVA DE ASTROCITOS DE CPFm EN EL COMPORTAMIENTO ANIMAL

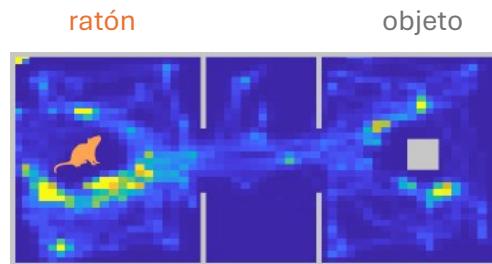
AAV5-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry



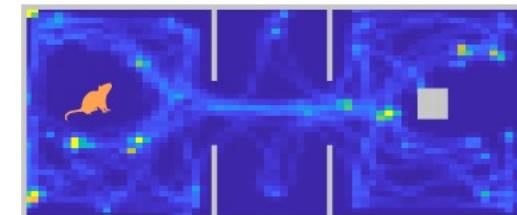
#### Reconocimiento social (SR)



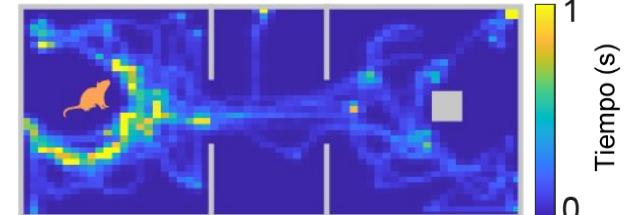
##### naive



##### Cort

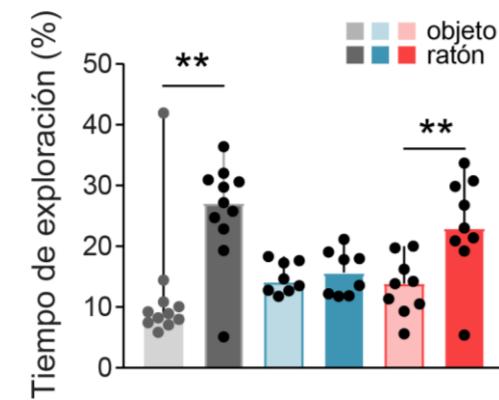
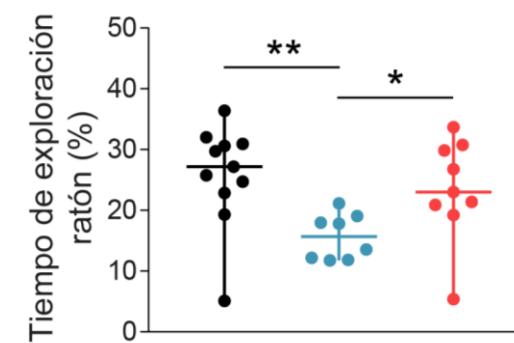


##### Cort + GFAP-hM3Dq



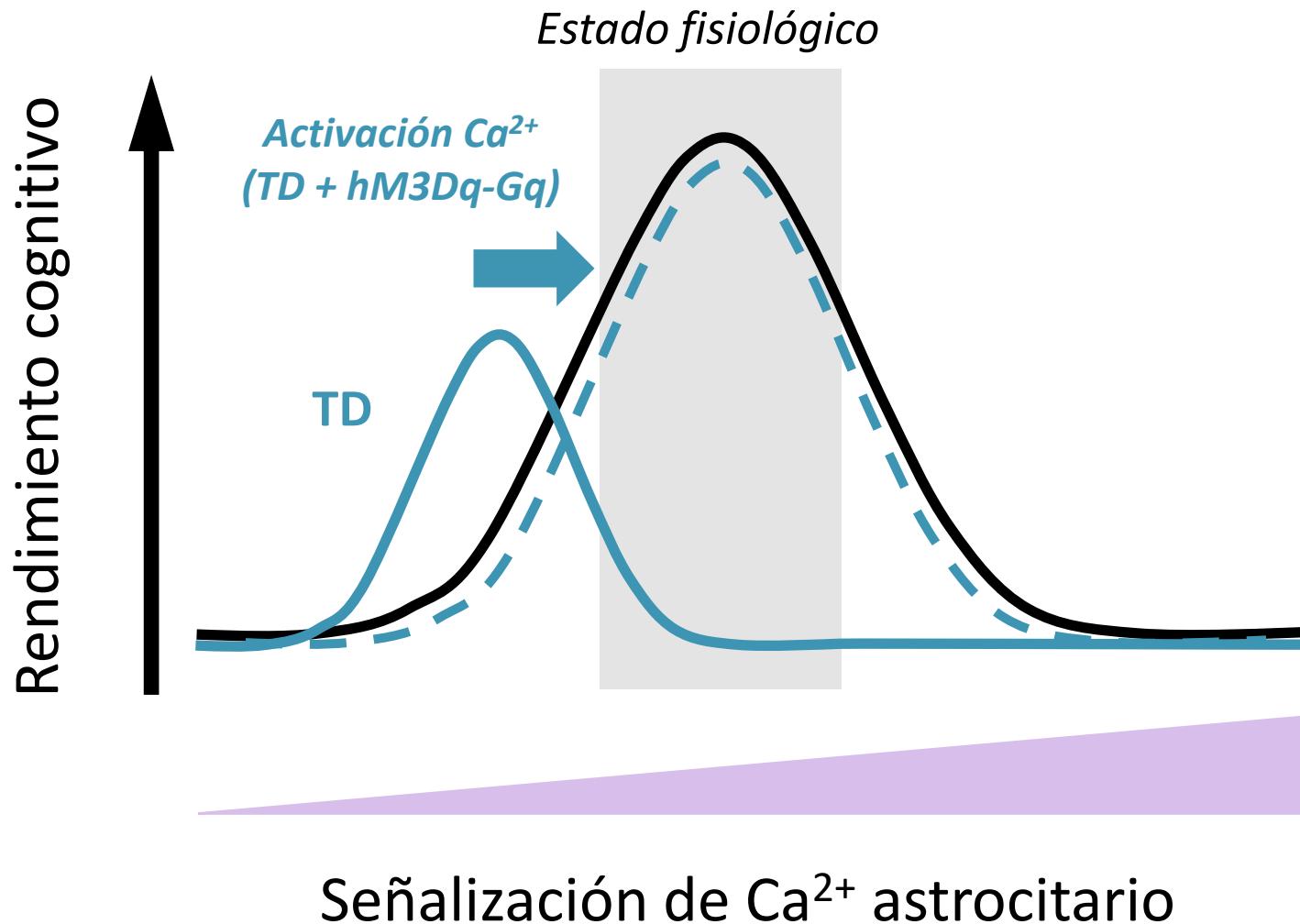
#### Recuperación del interés social

control  
Cort  
Cort  
GFAP-hM3Dq



González-Arias et al. *Mol Psychiatry*, 2023

La activación selectiva de astrocitos de CPFm restaura el interés social en ratones Cort

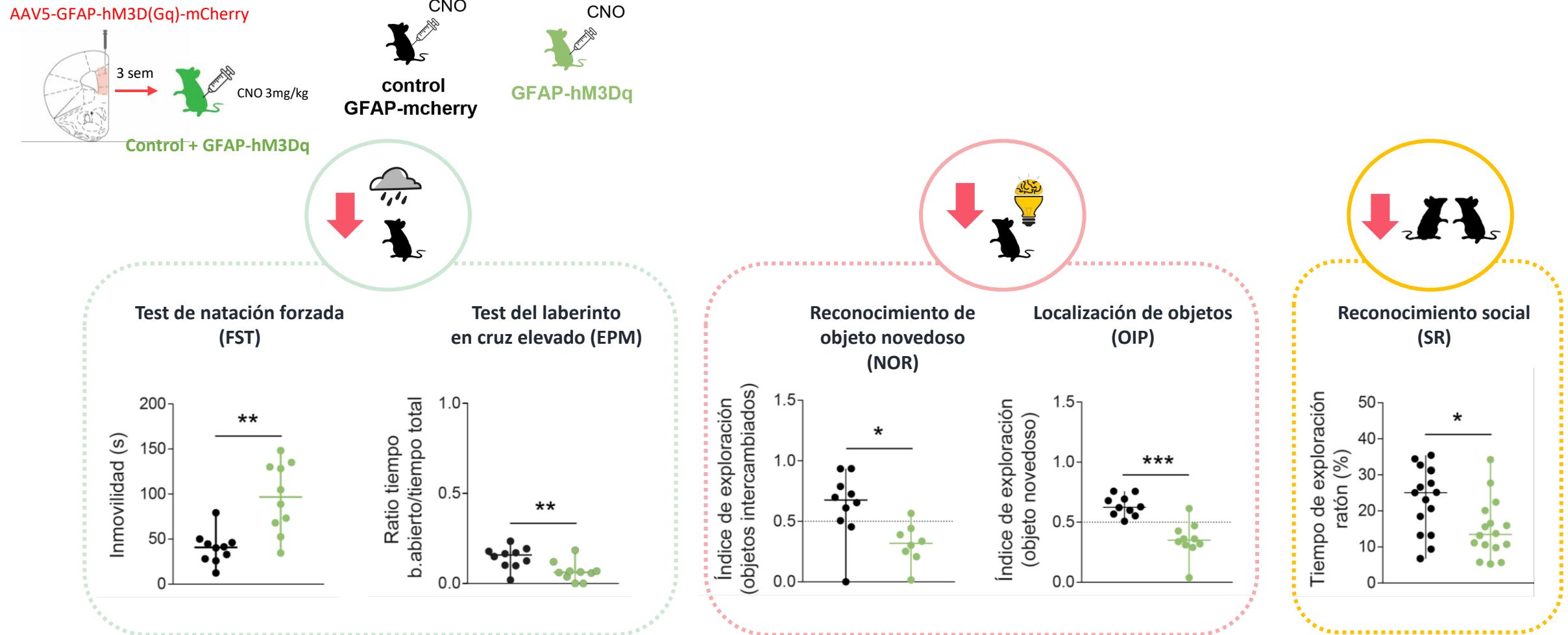


¿Puede la activación de  $\text{Ca}^{2+}$  en astrocitos de CPFm mejorar las capacidades cognitivas en condiciones fisiológicas?



## RESULTADOS

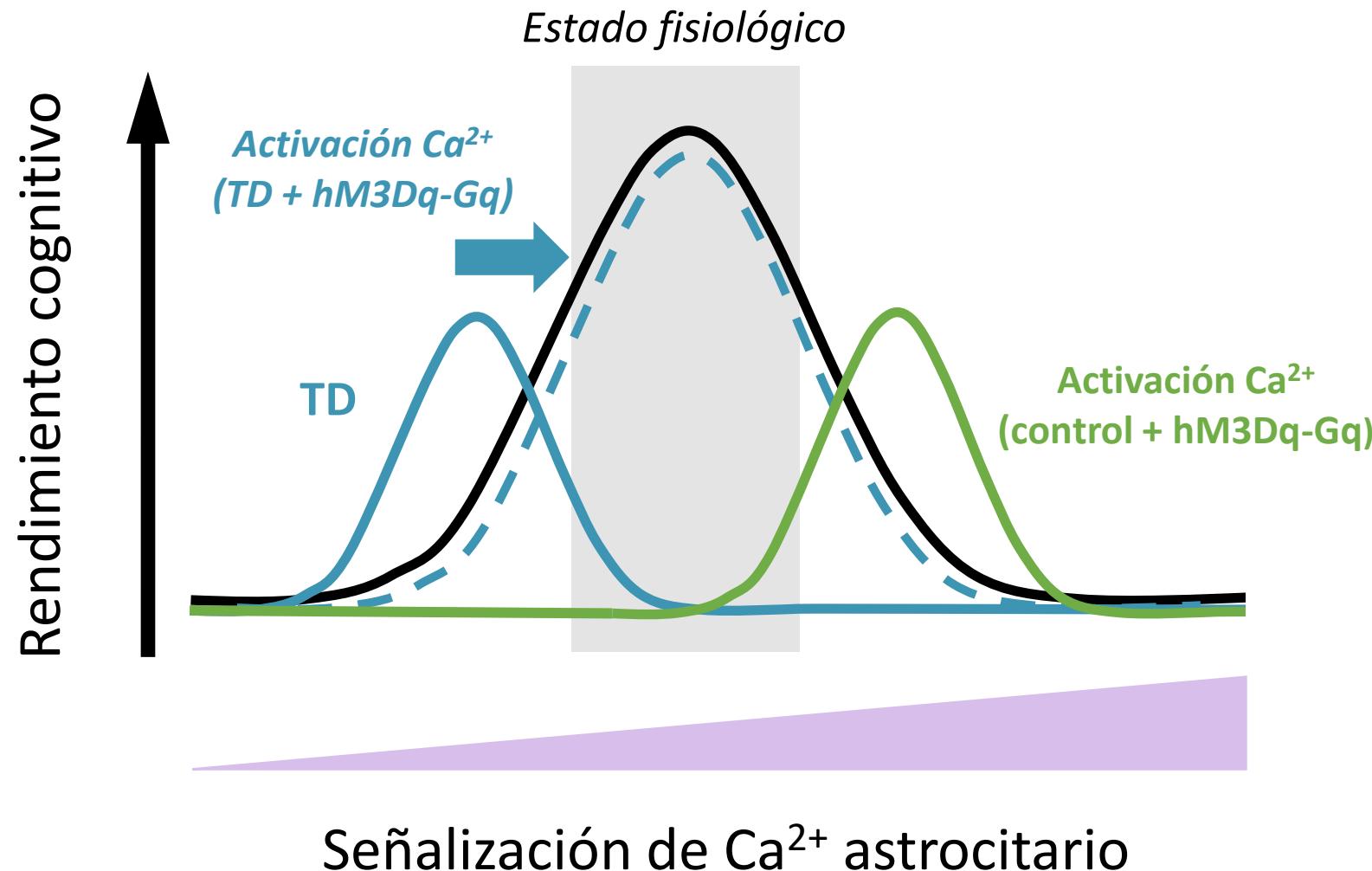
### 4. EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS DE LA MANIPULACIÓN SELECTIVA DE ASTROCITOS DE CPFm EN EL COMPORTAMIENTO ANIMAL



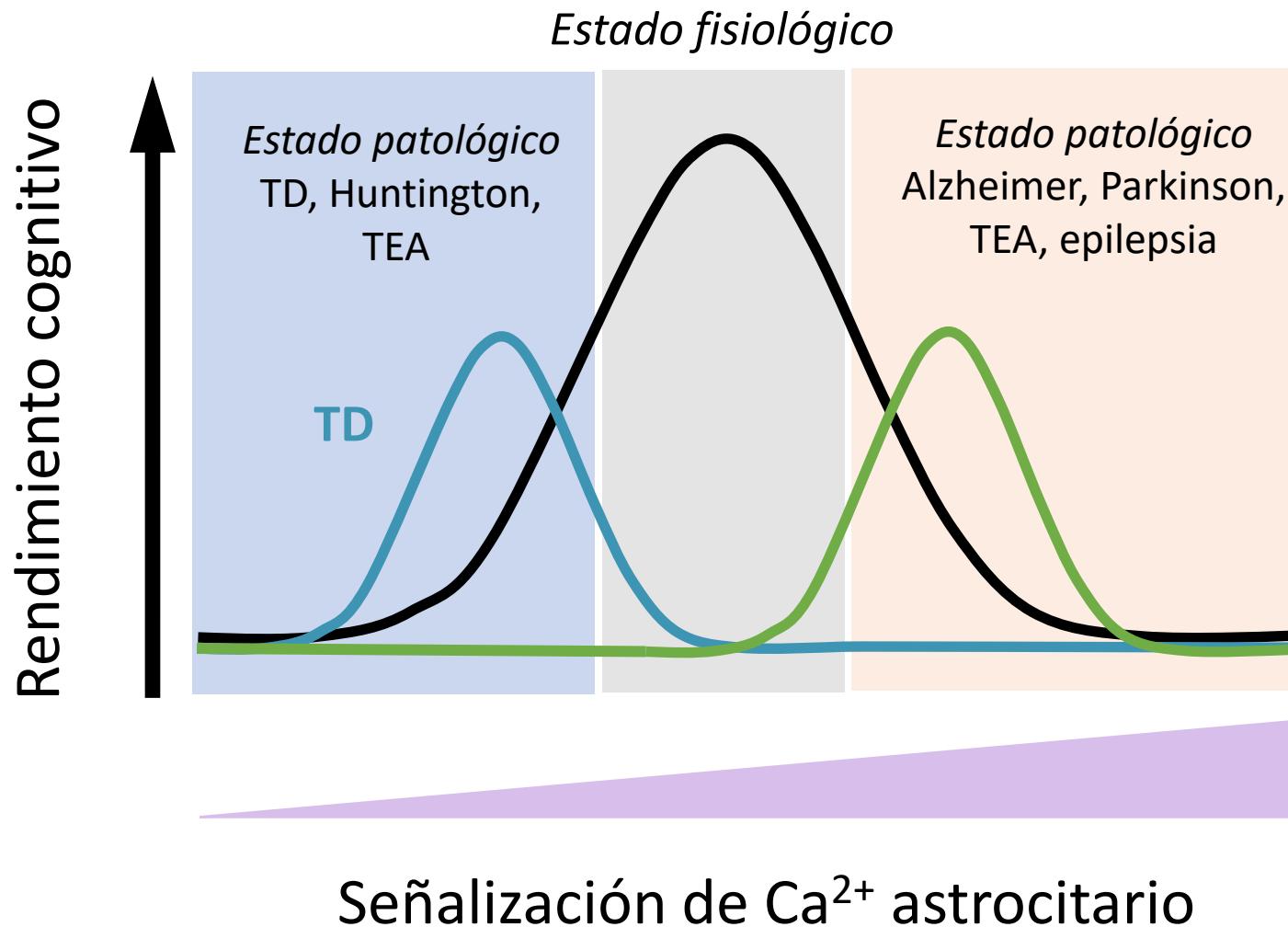
La activación de la red astrocitaria en CPFm altera las respuestas comportamentales

En condiciones fisiológicas el aumento de la señalización de  $\text{Ca}^{2+}$  en astrocitos recrea las alteraciones asociadas al TD

# Existe una estrecha relación entre el rendimiento cognitivo y la regulación de la señalización de $\text{Ca}^{2+}$ en astrocitos de CPFm



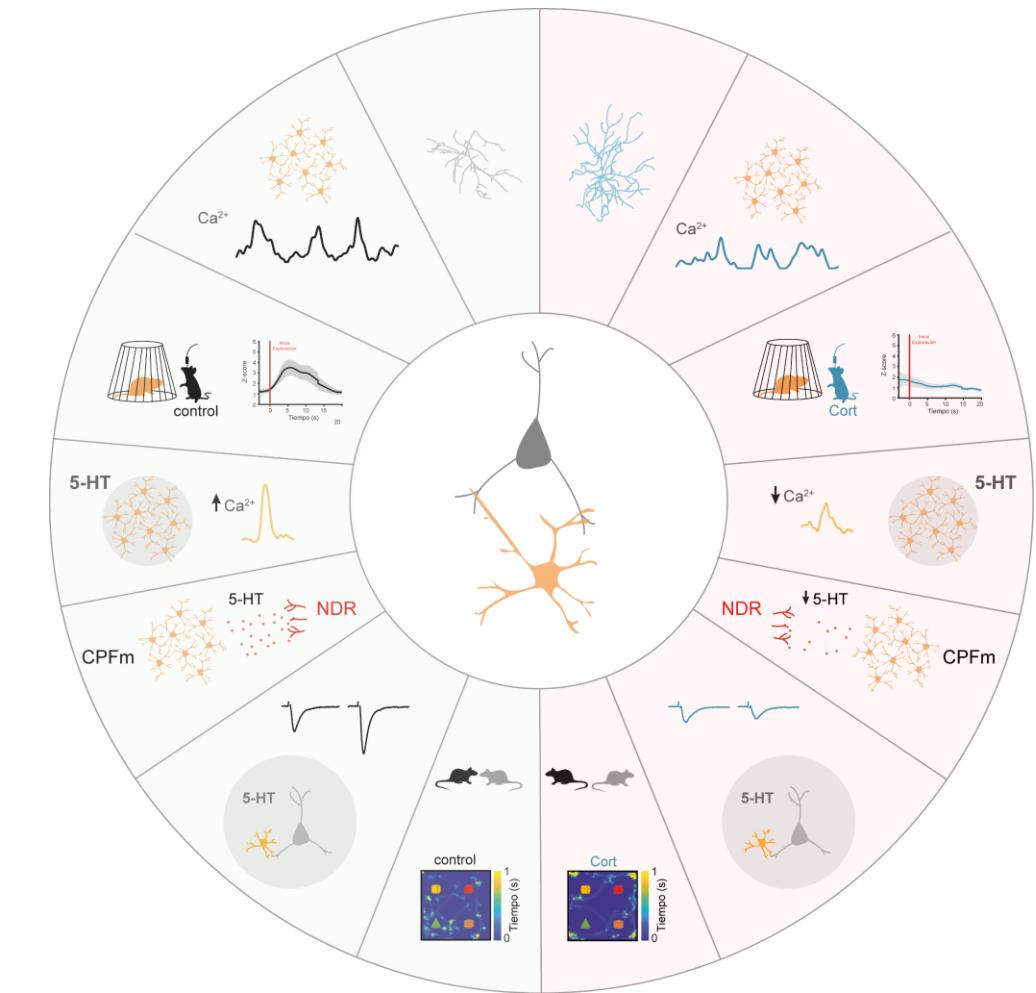
# Existe una estrecha relación entre el rendimiento cognitivo y la regulación de la señalización de $\text{Ca}^{2+}$ en astrocitos de CPFm



1. El tratamiento crónico con Cort aumenta la complejidad anatómica de los astrocitos de las capas 2/3 de CPFm.
2. Las dinámicas de  $\text{Ca}^{2+}$  de astrocitos de CPFm a nivel individual, así como la actividad de  $\text{Ca}^{2+}$  a nivel poblacional están alteradas en los ratones Cort.
3. Durante la interacción social los ratones Cort presentan dinámicas de  $\text{Ca}^{2+}$  reducidas en astrocitos de CPFm.
4. Los astrocitos de CPFm son sensibles a la señalización serotoninérgica, pudiendo responder con aumentos de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular a la liberación endógena de 5-HT estimulada por las aferencias procedentes del NDR.
5. El tratamiento crónico con Cort produce una disfunción de la señalización de  $\text{Ca}^{2+}$  inducida por 5-HT en astrocitos de las capas 2/3 de rodajas de CPFm.
6. El tratamiento crónico con Cort induce una reducción en la liberación de 5-HT por parte de las neuronas del NDR que proyectan a CPFm.

## Fisiológico

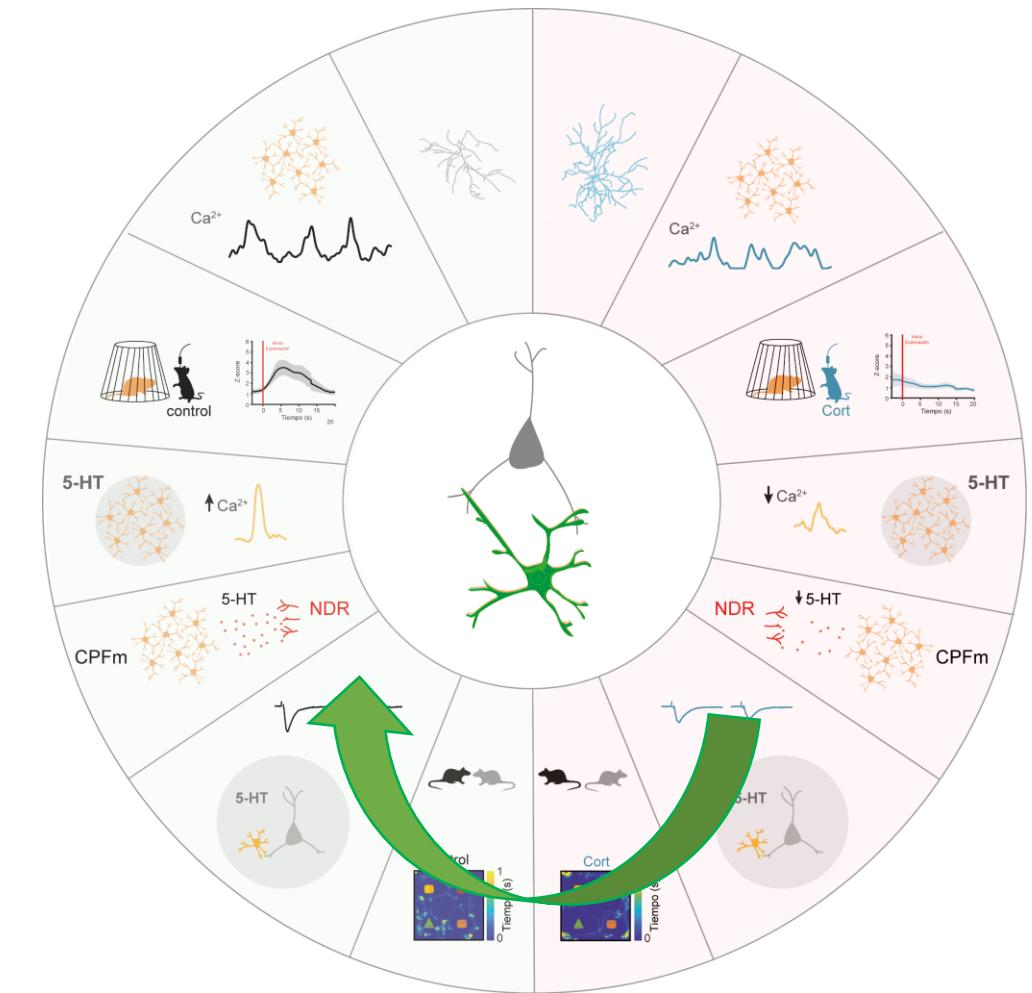
## Trastorno depresivo



7. La plasticidad sináptica excitadora en capas 2/3 de CPFm evocada por 5-HT involucra la señalización astrocitaria, que se ve alterada en ratones Cort provocando una inhibición a largo plazo de la transmisión sináptica excitadora.
8. La estimulación selectiva de los astrocitos de CPFm con Gq-DREADDS revierte las alteraciones cognitivas de ratones Cort, mejorando las habilidades cognitivas y sociales.
9. La estimulación selectiva de los astrocitos de CPFm con Gq-DREADDS en ratones control tiene un impacto negativo en el rendimiento cognitivo, recapitulando los principales déficits asociados al TD.
10. Los astrocitos participan en la actividad de los circuitos cerebrales que subyacen al rendimiento conductual de los animales.
11. El control de la señalización de  $\text{Ca}^{2+}$  en astrocitos de CPFm se propone como una potencial herramienta terapéutica en el tratamiento del TD.

## Fisiológico

## Trastorno depresivo



Muchas gracias por su atención

