

RESUMEN

El daño cerebral es la mayor causa de discapacidad en la etapa adulta, particularmente afectando a la población anciana. Independientemente de la causa, los diferentes tipos de daño cerebral comparten eventos fisiopatológicos similares. Hasta ahora, la mayoría de los estudios se han enfocado en estudiar las respuestas inmediatas tras la lesión, mientras que los mecanismos que subyacen bajo los procesos de plasticidad y regeneración cortical aún son poco comprendidos. Neuregulina 1 (Nrg1) es una proteína esencial en el desarrollo de los circuitos corticales que se ha asociado a diferentes trastornos psiquiátricos, como la esquizofrenia. En las últimas décadas, varios trabajos proponen a Nrg1 como un factor neuroprotector emergente en el ámbito de lesión. No obstante, la mayoría de las investigaciones se centran en estudiar la respuesta temprana de la forma soluble de Nrg1 tras el daño, mediada por la activación de los receptores ErbB, la cual no recapitula la compleja señalización de Nrg1 en su totalidad. De este modo, nuestro laboratorio ha demostrado previamente que la señalización intracelular de Nrg1 se activa en situaciones de hipoxia, promoviendo la supervivencia neuronal tras ictus.

El principal objetivo de esta tesis es estudiar el papel de la señalización de Nrg1 en la regeneración y plasticidad cortical tras daño cerebral. Para ello, hemos desarrollado novedosos modelos para 1) ofrecer una nueva metodología que permita estudiar la regeneración axonal *in vitro* e *in vivo* y 2) específicamente centrarnos en el papel de la señalización intracelular de Nrg1 en el ámbito de daño cortical.

Primero, hemos desarrollado un nuevo modelo *in vitro* de lesión axonal en cultivos de neuronas corticales. En él, se utilizaron técnicas de electroporación para marcar un número limitado de neuronas, combinado con una posterior lesión física basada en una transección mecánica de los axones. En este modelo, también se realizaron estudios de ganancia y pérdida de función para comprender el papel de Nrg1 en el crecimiento axonal. Nuestros resultados mostraron que Nrg1, y específicamente la activación de su vía intracelular, potencia el crecimiento axonal tras daño.

Posteriormente, hemos diseñado una metodología novedosa en ratones para estudiar la regeneración cortical, combinando técnicas de trazado de conexiones cortico-corticales con una lesión focal y mecánica en la corteza primaria motora. Además, se realizó una extensa caracterización funcional empleando diversas pruebas comportamentales específicas para detectar déficits motores en lesiones unilaterales como la ofrecida en este modelo. Gracias al procesamiento del tejido cerebral en secciones coronales distribuidas en series flotantes, se combinaron diferentes tinciones para realizar reconstrucciones 3D del cerebro y, así, ofrecer un estudio completo incluyendo desde medidas volumétricas hasta un análisis de diferentes poblaciones celulares y estructuras subcelulares. Como ejemplo de la potencia de este método,

se observó la correlación entre la eliminación de redes perineuronales y la activación de células microgliales en la zona adjacente a la lesión.

Esta metodología de lesión cortical *in vivo* ha sido utilizada a lo largo de esta tesis en innovadores modelos genéticos de ratón para entender el papel de Nrg1 tras daño cortical. En este sentido, se eliminó la expresión del gen de Nrg1 en ratonas jóvenes y maduras previamente a la lesión, observando que la ausencia de Nrg1 promueve la respuesta neuroinflamatoria y una preservación axonal limitada, conllevando una menor recuperación motora espontánea tras la lesión.

Finalmente, para ofrecer una visión mecanicista del papel de la señalización intracelular de Nrg1, su dominio intracelular se expresó específicamente en neuronas corticales, observando que la activación de esta vía de señalización reduce la respuesta inflamatoria tras lesión cortical. En conclusión, nuestros resultados señalan que la señalización de Nrg1, y específicamente la activación de su vía intracelular, podría ser una diana molecular prometedora en el contexto de neuroprotección, regeneración y recuperación cortical tras daño cerebral.