

## Estudio de la conectividad funcional de las neuronas GABAérgicas en un modelo de ratón de Síndrome de Dravet

<b>INVESTIGADOR/A PRINCIPAL</b>	<b>Paolo Bonifazi</b>
<b>CENTRO</b>	<b>Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces-Bizkaia</b>

**RESUMEN.** Uno de los tipos de epilepsia más graves y devastadores es el síndrome de Dravet (SD) ya que las convulsiones, que son extremadamente frecuentes y resistentes a los medicamentos, comienzan tan temprano (alrededor del tercer mes de edad) que interrumpen funcionalmente las últimas etapas del desarrollo cerebral e inducen profundos efectos secundarios y consecuencias duraderas. El SD está causado por una mutación genética espontánea que paradójicamente reduce la actividad neuronal pero finalmente se traduce en convulsiones de inicio temprano y frecuentes.

Se ha planteado la hipótesis, respaldada por pruebas experimentales, de que las neuronas inhibitoras se ven afectadas preferencialmente por la mutación, por lo que una inhibición disfuncional o reducida en el cerebro conduce a condiciones epileptogénicas hiperexcitables. ¿Cómo se llega a la disfuncionalidad de los circuitos inhibitorios en el DS? ¿Es posible reforzar oportunamente la acción del circuito inhibitorio para compensar su debilidad y bloquear la propagación de la excitación epiléptica?

En este proyecto nos proponemos abordar estas dos cuestiones en un modelo experimental de ratón del SD a través de un esfuerzo multidisciplinario conjunto (que combina conocimientos en neuro-ingeniería, genética y neurobiología) entre centros de investigación españoles (vasco) y franceses cercanos (Aquitania), para, en primer lugar, profundizar en los mecanismos y revelar las conexiones aberrantes en el hipocampo del SD (un circuito clave en la epilepsia) durante el desarrollo y, en segundo lugar, para bloquear las convulsiones en su inicio mediante el establecimiento de una estimulación óptica de última generación del sistema inhibitor controlada en tiempo real con electrodos. Esperamos proporcionar nuevos conocimientos sobre los mecanismos subyacentes que conducen al cerebro con SD disfuncional y allanar el camino para las futuras generaciones de estimulaciones capaces de aliviar la aparición de convulsiones y bloquear el ciclo de retroalimentación positiva que vincula las convulsiones con la muerte neuronal, inflamación, conectividad aberrante y gliosis.

**RESULTADOS OBTENIDOS.** El Síndrome de Dravet (SD) es uno de los tipos de epilepsia más graves y devastadores debido a que las convulsiones, que son extremadamente frecuentes y resistentes a los medicamentos, comienzan tan temprano (alrededor del tercer mes de edad) que interrumpen funcionalmente las últimas etapas del desarrollo del cerebro con profundas y duraderas consecuencias. Nuestro objetivo fue estudiar los sustratos biológicos inexplorados que podrían ser clave para comprender la epilepsia y explorar nuevas estrategias terapéuticas. Las convulsiones epilépticas recurrentes se generan por disfunciones o alteraciones de los circuitos neuro-gliales. Las convulsiones desencadenan una cascada de eventos que se retroalimentan positivamente y generan y perpetúan por un lado gliosis, inflamación, muerte celular, junto con conexiones patho-topológicas, sincronizaciones aberrantes e hiper-excitabilidad. Nos estudiamos en circuitos en desarrollo (estadio infantil) en modelo animal de ratones, expuesto a condiciones epileptogénicas, el impacto de la vía JAK/STAT de respuesta neuro-inflamatoria en la instalación del estado epiléptico. En particular en el estudio los investigadores midieron en manera longitudinal a la evolución de la dinámica y estructura de los circuitos neurales a distancia de días y semanas (cuando los circuitos pueden ser considerados ya adultos) desde el episodio al estadio infantil potencialmente epileptógeno. Remarcablemente, nos observamos que el bloqueo de STAT3 ha permitido prevenir: 1) daños y muerte de las neuronas y en particular de las neuronas inhibitorias (GABAérgicas), 2) estadios inflamatorios persistentes en los circuitos, 3) hiperactividad y hiper-sincronía de redes neurales típica del estado epiléptico. También los patrones de sincronía en circuitos tratados previamente con bloqueo de STAT3 han preservado su complejidad, que es relacionada a la capacidad de un circuito de elaborar información, en el paradigma que mayor complejidad lleve mayor posibilidad de elaboración de información. Este estudio abre nuevas perspectivas de prevención de la instalación de estados epilépticos durante el desarrollo cerebral temprano en el síndrome de DRAVET basada sobre el control de la respuesta neuro-inflamatoria

activada por actividad temprana epileptogénica. El estudio ha sido publicado en la revista de alto impacto BRAIN, y esta' firmado como ultimo autor por el IP del proyecto financiado.

#### Publicaciones:

- Poyatos-García J, Blázquez-Bernal Á, Selva-Giménez M, Bargiela A, Espinosa-Espinosa J, Vázquez-Manrique RP, Bigot A, Artero R, Vilchez JJ. CRISPR-Cas9 editing of a TNPO3 mutation in a muscle cell model of limb-girdle muscular dystrophy type D2. Mol Ther Nucleic Acids. 2023 Jan 11; 31:324-338. doi: 10.1016/j.omtn.2023.01.004. PMID: 36789274; PMCID: PMC9898580.
- Los resultados obtenidos durante el presente proyecto se han presentado mediante comunicaciones orales en diferentes congresos científicos internacionales, como el 8th International Istanbul Research Congress, el 5th Internacional New York Academic Research Congress, entre otros, y en nacionales como el ConBioPreval 2022 y el XV Congreso Internacional de Enfermedades Raras organizado por la asociación D'genes y la UCAM, y patrocinado por FEDER.
- Durante este proyecto, también se ha participado en diferentes reuniones y congresos internacionales organizados por la asociación Conquistando Escalones, donde se han compartido los resultados y avances con expertos mundiales en LGMDD2 y con los propios afectados por esta distrofia.
- Los resultados del proyecto forman parte de la tesis doctoral de Agueda Blazquez Bernal, titulada "Desarrollo de modelos experimentales de LGMDD2 y rastreo de fármacos".

#### ENTIDAD DE PACIENTES QUE APOYA EL PROYECTO



**Asociación de voluntarios en favor  
del Síndrome de Dravet  
"ApoyoDravet"**