

RESUM

El sistema nerviós forma una xarxa organitzada de circuits neuronals especialitzades que són essencials per a una locomoció adequada. El sistema nerviós central (que consistix en el cervell i la medul·la espinal) rep i transmet informació de manera eficaç que és transmesa pel sistema nerviós perifèric als músculs, que comporta a moviment. Mentre el sistema nerviós perifèric reté la seua capacitat intrínseca de regeneració, el sistema nerviós central té una capacitat regenerativa limitada o nul·la en estadis adults. Per això, les lesions en el sistema nerviós central són crítiques i sovint manquen de cura. Una d'elles és la lesió de la medul·la espinal, que és una condició devastadora i debilitant que altera la vida i que manca d'una cura o tractament eficaç actualment. Una lesió resulta en una interrupció de l'entrada supraespinal en la medul·la espinal, la qual cosa conduïx a una disfunció locomotora davall de la lesió. La relació alterada entre excitació i inhibició davall d'una lesió, amb un augment en la inhibició, juntament amb la capacitat limitada de regeneració endògena dels tractes neuronals afectats, limiten encara més la funció locomotora. Com a resultat, la paràlisi completa pot ocórrer fins i tot en pacients amb lesions anatòmicament incompletes. En esta tesi doctoral, ens centrem en estes idees principals per a definir una teràpia combinada com a estratègia per a tractar la lesió de la medul·la espinal. Hipotetizamos que, per a ajudar a la capacitat limitada de regeneració dels tractes, un trasplantament neuronal perifèric (gangli de l'arrel dorsal, DRG) que reté la capacitat intrínseca de regeneració pot ser una estratègia de trasplantament efectiva. Per a alterar la inhibició, millorar la supervivència i integració del trasplantament en els circuits, es va emprar la sobreexpressió del canal de sodi dependent del voltatge bacteri, NaChBac. Finalment, per a dirigir i millorar la regeneració axonal de les cèl·lules endògenes i trasplantades, utilitzem medicaments que modulen el citoesquelet per a millorar la longitud axonal. Esta tesi doctoral estudia els efectes d'esta estratègia combinada per a tractar la lesió de la medul·la espinal.

En el Capítol 1, descrivim els estudis *in vitro* realitzats per a validar la nostra hipòtesi. Primer estudiem l'efecte sinèrgic dels medicaments que modulen el citoesquelet Epothilone B i Blebbistatin en la longitud de les neurites *in vitro* i observem que mentre el tractament individual amb Blebbistatin augmenta la longitud dels neurites, la combinació amb Epothilone conduïx a una morfologia del con de creixement alterada que resulta en una

disminució de la longitud dels neurites. A continuació, descrivim l'efecte de l'expressió de NaChBac en els DRG i les cèl·lules Neuro-2A. En les DRG, l'expressió de NaChBac conduïx a un augment en l'activitat intrínseca i la secreció de factors neurotròfics, promovent la senyalització pro-supervivència i la senyalització anti-apoptòtic en les cèl·lules Neuro-2A. Finalment, descrivim com l'efecte combinat de l'expressió de NaChBac i Blebbistatin millora la longitud dels neurites *in vitro*.

En el Capítol 2, avaluem la supervivència, eficàcia i interacció del trasplantament de DRG amb el tracte corticoespinal, el tracte més important involucrat en la locomoció, en un estudi *in vivo* a curt termini. Trobem una integració i supervivència adequada del trasplantament en el teixit hoste. A més, vam mostrar que l'expressió de NaChBac augmenta la supervivència del nombre total de cèl·lules trasplantades, així com millora la preservació del tracte corticoespinal després de la lesió.

En el Capítol 3, avaluem l'efecte del tractament combinat en un escenari de lesió crònica i severa. Vam demostrar que la combinació del trasplantament que expressa NaChBac i Blebbistatin limita la recuperació funcional, mentres que el trasplantament que expressa NaChBac millora significativament la funció locomotora en ratolins. Per tant, centrem la nostra investigació en este grup i descrivim que els animals trasplantats amb DRGs que expressen NaChBac tenien un augment en la fibra neuronal positiva per a tubulina i la preservació de la mielina, mentres que les fibres descendents serotoninérgics i corticoespinals van romandre sense alteració. Trobem que el trasplantament de DRGs que expressen NaChBac va augmentar l'entrada neuronal excitatòria, com es va observar per l'augment en el nombre de contactes de VGLUT2 i la disminució en els contactes de VGAT immediatament cabals a les lesions.

Així doncs, el treball de la present tesi doctoral suggerix que el trasplantament de DRGs dissociats que expressen NaChBac rescata una funció motora significativa en retindre una activitat de relé neuronal excitatòria immediatament cabal a les lesions en un model crònic i sever de lesió de la medul·la espinal i destaca la importància del manteniment de l'activitat com a teràpia efectiva per a la lesió de la medul·la espinal.