

RESUMEN

El sistema nervioso forma una red organizada de circuitos neuronales especializadas que son esenciales para una locomoción adecuada. El sistema nervioso central (que consiste en el cerebro y la médula espinal) recibe y transmite información de manera eficaz que es transmitida por el sistema nervioso periférico a los músculos, que conlleva a movimiento. Mientras el sistema nervioso periférico retiene su capacidad intrínseca de regeneración, el sistema nervioso central tiene una capacidad regenerativa limitada o nula en estadios adultos. Por ello, las lesiones en el sistema nervioso central son críticas y a menudo carecen de cura. Una de ellas es la lesión de la médula espinal, que es una condición devastadora y debilitante que altera la vida y que carece de una cura o tratamiento eficaz actualmente. Una lesión resulta en una interrupción de la entrada supraespinal en la médula espinal, lo que conduce a una disfunción locomotora debajo de la lesión. La relación alterada entre excitación e inhibición debajo de una lesión, con un aumento en la inhibición, junto con la capacidad limitada de regeneración endógena de los tractos neuronales afectados, limitan aún más la función locomotora. Como resultado, la parálisis completa puede ocurrir incluso en pacientes con lesiones anatómicamente incompletas. En esta tesis doctoral, nos centramos en estas ideas principales para definir una terapia combinada como estrategia para tratar la lesión de la médula espinal. Hipotetizamos que, para ayudar a la capacidad limitada de regeneración de los tractos, un trasplante neuronal periférico (ganglios de la raíz dorsal, DRG) que retiene la capacidad intrínseca de regeneración puede ser una estrategia de trasplante efectiva. Para alterar la inhibición, mejorar la supervivencia e integración del trasplante en los circuitos, se empleó la sobreexpresión del canal de sodio dependiente del voltaje bacteriano, NaChBac. Finalmente, para dirigir y mejorar la regeneración axonal de las células endógenas y trasplantadas, utilizamos medicamentos que modulan el citoesqueleto para mejorar la longitud axonal. Esta tesis doctoral estudia los efectos de esta estrategia combinada para tratar la lesión de la médula espinal.

En el Capítulo 1, describimos los estudios *in vitro* realizados para validar nuestra hipótesis. Primero estudiamos el efecto sinérgico de los medicamentos que modulan el citoesqueleto Epothilone B y Blebbistatin en la longitud de las neuritas *in vitro* y observamos que mientras el tratamiento individual con Blebbistatin aumenta la longitud de las neuritas, la

combinación con Epothilone conduce a una morfología del cono de crecimiento alterada que resulta en una disminución de la longitud de las neuritas. A continuación, describimos el efecto de la expresión de NaChBac en los DRG y las células Neuro-2A. En las DRG, la expresión de NaChBac conduce a un aumento en la actividad intrínseca y la secreción de factores neurotróficos, promoviendo la señalización pro-supervivencia y la señalización anti-apoptótica en las células Neuro-2A. Finalmente, describimos cómo el efecto combinado de la expresión de NaChBac y Blebbistatin mejora la longitud de las neuritas *in vitro*.

En el Capítulo 2, evaluamos la supervivencia, eficacia e interacción del trasplante de DRG con el tracto corticoespinal, el tracto más importante involucrado en la locomoción, en un estudio *in vivo* a corto plazo. Encontramos una integración y supervivencia adecuada del trasplante en el tejido huésped. Además, mostramos que la expresión de NaChBac aumenta la supervivencia del número total de células trasplantadas, así como mejora la preservación del tracto corticoespinal después de la lesión.

En el Capítulo 3, evaluamos el efecto del tratamiento combinado en un escenario de lesión crónica y severa. Demostramos que la combinación del trasplante que expresa NaChBac y Blebbistatin limita la recuperación funcional, mientras que el trasplante que expresa NaChBac mejora significativamente la función locomotora en ratones. Por lo tanto, centramos nuestra investigación en este último grupo y encontramos que los animales trasplantados con DRGs que expresan NaChBac tenían un aumento de fibras neuronales positivas para tubulina, con mayor preservación de mielina, aunque las fibras descendentes serotoninérgicas y corticoespinales no mostraron cambios significativos entre los grupos experimentales. Encontramos que el trasplante de DRGs que expresan NaChBac aumentó significativamente el input excitatorio neto determinado por el aumento en el número de contactos de VGLUT2 y la disminución en los contactos de VGAT en los somas de las neuronas inmediatamente caudales a las lesiones.

Así pues, el trabajo de la presente tesis doctoral sugiere que el trasplante de DRGs disociados que expresan NaChBac rescata significativamente parte de la función motora perdida, contribuyendo a mantener una actividad neuronal remanente excitatoria inmediatamente caudal a la zona lesionada, poniendo en evidencia la relevancia del

Sonia Hingorani Jai Prakash

mantenimiento de la actividad neuronal como estrategia de terapia para el rescate funcional de lesiones medulares severas.