

TERAPIA CELULAR PARA EPILEPSIAS INFANTILES



Las encefalopatías epilépticas infantiles (como los Síndromes de Dravet y de West) carecen actualmente de terapias efectivas. Queremos desarrollar una alternativa terapéutica novedosa para niños con epilepsia utilizando la terapia celular.

✓ OBJETIVO

Mínimo: 6.000 €
Óptimo: 25.000 €

✓ UBICACIÓN

Sevilla





Descripción

El trasplante de precursores neuronales GABAérgicos logra frenar las alteraciones epileptogénicas en modelos animales de epilepsia del lóbulo temporal farmacorresistente y en ratones con Alzheimer.

Hunt, R. F., K. M. Girskis, et al. (2013). "GABA progenitors grafted into the adult epileptic brain control seizures and abnormal behavior." *Nat Neurosci* 16(6): 692-7.

Martinez-Losa M, Alvarez-Dolado M, et al. (2018)
"Nav1.1-Overexpressing Interneuron Transplants Restore Brain Rhythms and Cognition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease"
Neuron 98: 1–15



¿Qué está ocurriendo?

La epilepsia es una afección crónica, de etiología muy diversa, debida a un desequilibrio entre excitación e inhibición que conduce a una hiperactividad neuronal incontrolada. En general, las crisis pueden deberse a una hiperactividad de las neuronas excitatorias o, por el contrario, a la ausencia de actividad de las interneuronas que conforman el sistema inhibitorio, normalmente por alteraciones en las neuronas GABAérgicas. Son numerosas las evidencias que relacionan estrechamente GABA y epilepsia. De ahí que muchas estrategias terapéuticas se centren en el sistema GABAérgico. De hecho, los fármacos anticonvulsivantes de primera opción, como la Gabapentina o las Benzodiazepinas, están íntimamente relacionados con el GABA. Sin embargo, pese a la eficacia comprobada de estos fármacos, entre los pacientes epilépticos existe un grave problema de farmacorresistencia. Se calcula que alrededor del 30% de las epilepsias son incontrolables con tratamiento farmacológico. Esta cifra puede llegar hasta un 80% de los pacientes con determinados tipos de epilepsia, como las encefalopatías infantiles que incluyen al Síndrome de Dravet y al de West. La única alternativa establecida para ellos es el tratamiento quirúrgico mediante resección cerebral, aplicable sólo en un 7-10% de estos enfermos. Por tanto, es necesario el desarrollo de nuevos tipos de tratamientos.



¿Por qué?

Nuestro proyecto trata de buscar nuevas alternativas terapéuticas. La terapia celular ha surgido en los últimos años como una gran



posibilidad para no solo paliar, sino curar, diversas enfermedades que afectan al sistema nervioso, entre ellas la epilepsia. Varios grupos, incluyendo el nuestro, venimos trabajando en una nueva fuente de precursores GABAérgicos con resultados muy alentadores. Se trata de los progenitores neuronales que se originan en la eminencia ganglionar medial (MGE). Esta región da lugar a las interneuronas GABAérgicas del cortex y el hipocampo durante el desarrollo normal del cerebro. Cuando las células de esta región son trasplantadas logran una alta supervivencia, amplia distribución en diferentes zonas del cerebro, se diferencian hacia interneuronas maduras, se integran en los circuitos del huésped y son plenamente funcionales. Ello supone que tras ser implantadas en modelos de epilepsia de adultos o más recientemente en modelos de Alzheimer, estas células son capaces de frenar las crisis epilépticas, de reducir la hiperactividad incontrolada, normalizar los perfiles de actividad encefalográfica y recuperar las alteraciones cognitivas que padecen los modelos animales en los que se han ensayado.

Ello abre una puerta de esperanza para su aplicación en pacientes y para su posible utilización en otros tipos de epilepsias como las encefalopatías infantiles.



¿Y ahora qué podemos hacer?

Con el presente proyecto podremos ensayar ahora estas células en modelos animales de Síndrome de Dravet y de West para comprobar sus beneficios y verificar si en estas enfermedades también es posible frenar las crisis epilépticas. Para ello, en la Fase 1 del proyecto pondremos a punto los modelos animales de estas patologías, prepararemos las colonias de animales necesarias para realizar los trasplantes y realizaremos los ensayos de comportamiento y eletrofisiología que nos servirán de base para comprobar los efectos de los trasplantes. En la Fase 2 realizaremos los trasplantes en los modelos y comenzaremos a observar los efectos a nivel de electrofisiología mediante EEG. En la Fase 3 realizaremos los ensayos de comportamiento y cognición para evaluar el efecto de los trasplantes sobre la conducta, supervivencia y las crisis de los modelos. Por último, en la fase 4 verificaremos la presencia de las células trasplantadas, su distribución, diferenciación y sus efectos a nivel histológico y molecular.

Con ello obtendremos una imagen global con la que saber cómo de efectivo es el trasplante de este tipo de células y las posibilidades de éxito y cómo de seguro sería un ensayo clínico futuro.



PRECIPITANDO ¿A qué se dedicará tu aportación?



A la contratación de personal investigador postdoctoral que se responsabilizará de la ejecución del proyecto. También, en esta fase 1 del proyecto (6 meses), se destinará a la compra y mantenimiento de los animales modelo en los que se realizarán los ensayos pre-clínicos de terapia celular. En las sucesivas fases (hasta 4, cada una de 6 meses de duración) se mantendrá la contratación del investigador postdoctoral y se destinará a realizar las diferentes pruebas de análisis de comportamiento, encefalogramas, histológicas y moleculares necesarias para verificar los efectos y beneficios de la terapia celular. En caso de obtener importes superiores el dinero se destinará a la siguiente fase del proyecto hasta completarlo.

La fase 1 del proyecto se iniciará con los trasplantes de precursores GABAérgicos en un modelo de S. de West en el que ya hemos observado mejoras conductuales con este tipo de tratamiento. Ahora queremos completar los estudios de encefalogramas para conformar a nivel electrofisiológico las mejoras observadas a nivel de comportamiento. Analizaremos el espectro de ondas y la reducción en el número de espasmos, su frecuencia y duración.

Además, compraremos y ampliaremos la colonia de ratones modelo de S. de Dravet (3 meses). Basándonos en la línea de ratones transgénicos condicionales floxeados para SCN1A, los cuales se adquirirán en Jackson Laboratories, generaremos 2 modelos de SD mediante su cruce con diferentes líneas que expresen cre condicionalmente en determinadas subpoblaciones de interneuronas. De esta forma se eliminaría la expresión de Nav1.1 (lo que causa la enfermedad) específicamente en dichas poblaciones celulares.

Una vez que se obtenga una colonia suficiente de parejas progenitoras y animales a testar procederemos a su caracterización a nivel de comportamiento. En una primera cohorte de unos 15-20 individuos por grupo realizaremos pruebas openfield, NORT, dark/light field, elevated plus maze, social interaction, etc... Las alteraciones que observemos en cada uno de los parámetros que analicemos serán los niveles basales del comportamiento y servirán para evaluar posteriormente los posibles efectos positivos del trasplante de precursores GABAérgicos. Estimamos realizar estos ensayos en 3 meses.

De forma similar, durante los 2 últimos meses de esta fase implantaríamos electrodos para registrar EEG y analizar las crisis epilépticas, actividad interictal y el espectro de ondas de forma basal en estos modelos.

Por último, prepararemos las colonias de animales donantes de progenitores GABAérgicos, que expresan proteínas de fluorescencia para facilitar su trazado.



 ¿Quieres saber más?

Puedes leer nuestras publicaciones o visitar la página web del CABIMER.

<http://www.cabimer.es/web3/grupos-de-investigacion/terapia-celular-en-neuropatologias/>

 Repercusiones del proyecto

Con el proyecto podremos saber si la terapia celular que desarrollamos es beneficiosa para frenar las crisis epilépticas en niños con síndromes como el Dravet y West. Sentará las bases para desarrollar posteriormente ensayos clínicos seguros y con alta probabilidad de éxito para un grupo de pacientes que actualmente no cuentan con ningún tratamiento efectivo.

 Otros datos

Publicaciones:

GABAergic neuronal precursor grafting: implications in brain regeneration and plasticity.

Alvarez Dolado M, Broccoli V.

Neural Plast. 2011;2011:384216. Review.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21766042>

Transplant of GABAergic precursors restores hippocampal inhibitory function in a mouse model of seizure susceptibility.

Zipancic I, Calcagnotto ME, Piquer-Gil M, Mello LE, Alvarez-Dolado M.

Cell Transplant. 2010; 19(5):549-64.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20144261>



Cryopreservation of GABAergic Neuronal Precursors for Cell-Based Therapy.

Rodríguez-Martínez D, Martínez-Losa MM, Alvarez-Dolado M.

PLoS One. 2017 Jan 25; 12(1):e0170776.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28122047>

Nav1.1-Overexpressing Interneuron Transplants Restore Brain Rhythms and Cognition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. Martínez-Losa M, Tracy TE, Ma K, Verret L, Clemente-Perez A, Khan AS, Cobos I, Ho K, Gan L, Mucke L, Alvarez-Dolado M, Palop JJ. *Neuron*. 2018 Apr 4; 98(1):75-89.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29551491>



Ubicación

Estamos en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER), situado en el parque tecnológico de la Isla de la Cartuja de Sevilla.



¿Quién está detrás de este proyecto?

El Dr. Manuel Álvarez Dolado es Licenciado en CC. Biológicas por la Universidad Autónoma de Madrid (1992). Realizó su Tesis Doctoral en



el Instituto de Investigaciones Biomédicas del CSIC bajo la dirección del Dr. Alberto Muñoz Terol (Premio Jaume I). El tema de su tesis fue la búsqueda y caracterización de genes regulados por hormona tiroidea implicados en el desarrollo del cerebro. Obtuvo el título de doctor en 1997 y permaneció en el mismo laboratorio como becario postdoctoral de la Comunidad Autónoma de Madrid hasta el año 2000. Posteriormente, se trasladó al laboratorio del Dr. Arturo Álvarez-Buylla (Premio Príncipe de Asturias) como visiting postdoc gracias a una beca MEC-Fulbright, inicialmente en la Rockefeller University de Nueva York y posteriormente en su nueva ubicación de la University of California en San Francisco (UCSF). Allí, estudió cómo migran las células madre neurales GABAérgicas en adulto y el embrión, así como los mecanismos de plasticidad y fusión de las células madre derivadas de la médula ósea. A finales del año 2003 retornó a España con un contrato de investigación FISS del ISCIII para trabajar en el Hospital General Universitario de Valencia, donde se responsabilizó del desarrollo e instalación de la Unidad de Terapia Celular. En el año 2006 obtuvo un contrato Ramón y Cajal con el que se le ofreció dirigir un laboratorio en el Centro de Investigación Príncipe Felipe de Valencia. Posteriormente, en el año 2008, obtuvo plaza de Científico Titular del CSIC para el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) de Sevilla. En estos centros ha venido desarrollando nuevas líneas de investigación sobre terapia celular en las que se emplean células madre de diverso origen para el tratamiento de patologías que afectan al sistema nervioso, con especial interés en aquellas relacionadas con la epilepsia y la ataxia. Estos proyectos han sido financiados ininterrumpidamente desde el año 2004 por el Instituto de Salud Carlos III, el Ministerio de Ciencia e Innovación, la Junta de Andalucía y diversas Fundaciones privadas sin ánimo de lucro. Es autor de más de 30 trabajos internacionales (Nature, Neuron, J. Neurosci.), ha dirigido varias tesis doctorales y numerosos trabajos de fin de Grado y Master. Es, además, Profesor en varios master y durante 4 años Profesor Asociado de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

