



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUN ZIENTZIAK

**Hipokanpoaren mendeko
portaeren eta endokannabinoide
sistemaren aldaketak loki-
lobuluko epilepsiaren animalia-
eredu batean**

*Ilazki Anaut, Jon Egaña,
Itziar Terradillos, Edgar Soria,
Leire Lekunberri, Sonia Maria Gómez,
Maitane Serrano, Itziar Bonilla,
Amaia Mimenza, Svein Achicallende,
Nagore Puente, Almudena Ramos,
Ianire Buceta, Irantzu Rico,
Inmaculada Gerrikagoitia,
Izaskun Elezgarai eta Pedro Grandes*

203-210 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.04.25>



Hipokanpoaren mendeko portaeren eta endokannabinoide sistemaren aldaketak loki-lobuluko epilepsiaren animalia-eredu batean

Anaut-Lusar, I.¹, Egaña-Huguet, J.^{1,2}, Terradillos, I.^{1,2}, Soria-Gómez, E.^{1,2,3}, Lekunberri, L.^{1,2}, Gómez-Urquijo, S.M.^{1,2}, Serrano, M.^{1,2}, Bonilla-Del Río, I.^{1,2}, Mimenza, A.^{1,2}, Achicallende, S.^{1,2}, Puente, N.^{1,2}, Ramos-Uriarte, A.^{1,2}, Buceta, I.^{1,2}, Rico-Barrio, I.^{1,2}, Gerrikagoitia, I.^{1,2}, Elezgarai, I.^{1,2}, Grandes, P.^{1,2}

¹Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU), ²Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHuko Zientzia Parkea (UPV/EHU)
³Ikerbasque, Basque Foundation for Science
ianaut002@ikasle.ehu.eus

Laburpena

Loki-lobuluko epilepsia (LLE) askotan epilepsiaren aurkako medikamentuekin trataezina den epilepsia partzial mota bat da. LLEn gehiegizko neurona-jarduera hipokanpoan gertatzen da, besteak beste. LLEdun pertsonen oroimen arazoak pairatzen dituztela deskribatu da. Bestalde, euren endokannabinoide (eKB) sisteman ere aldaketak gertatzen direla ikusi da, hala nola, CB₁ hartzailearen adierazpenaren murrizketa. eKB sistema, eta bereziki CB₁ hartzailea, oroimen-prozesuetan parte hartzen duela frogatu da. Horrez gain, CB₁ hartzaileek epilepsia-krisien larritasunean erantzukizun handia izan lezakete. Gure helburua, LLEren animalia-eredu batean portaera mailan nahiz maila zelularrean gertatzen diren aldaketak aztertzea da, CB₁ hartzailean arreta jarritz.

Hitz gakoak: Loki-lobuluko epilepsia, hipokanpoa, endokannabinoide sistema, oroimena.

Abstract

Temporal lobe epilepsy (TLE) is a type of partial epilepsy which is often resistant to anti-epileptic drugs. In TLE, unconventional neuronal activity takes place in the hippocampus, among other brain areas. TLE patients frequently show memory disorders. Moreover, they usually present alterations in the endocannabinoid (eCB) system, such as a reduction in the expression of the CB₁ receptor. It has been shown that the eCB system, and specially the CB₁ receptor, participates in memory processes. Furthermore, CB₁ receptors could be directly connected with the severity of the epileptic seizures. Our aim is to study the behavioural and the cellular changes that occur in an animal model of TLE, focusing on the CB₁ receptor.

Keywords: Temporal lobe epilepsy, hippocampus, endocannabinoid system, memory.

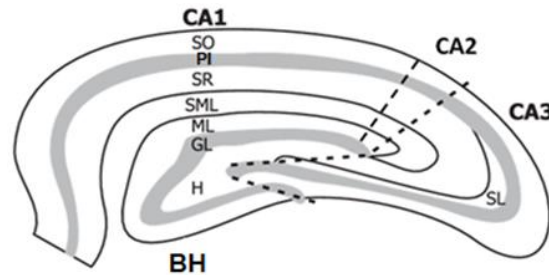
1. Sarrera eta motibazioa

Epilepsia adin guztietako pertsonen eragiten dien asaldura neurologiko kronikoa da. Munduko Osasun Erakundeak (MOE) estimatu du mundu osoan zehar 50 milioi pertsona inguruk pairatzen dutela gaitz hau. Krisi epileptiko errepikakorrek dira epilepsiaren bereizgarri, eta gutxienez bi epilepsia-krisi pairatu behar dira epilepsia bezala diagnostika dadin. Krisi epileptiko deritze garuneko neurona-jarduera gehiegizkoa eta sinkronikoa denean sortzen diren keinu edota sintoma iragankorrei (Fisher et al., 2014). Burmuineko eskualde desberdinetan gerta daiteke neuronon gehiegizko kitzikapena, loki-lobuluan edo bekoki-lobuluan, kasu. Lan honetan loki-lobuluko epilepsian (LLE) zentratuko gara. LLE epilepsia partzial mota bat da, maiz epilepsiaren aurkako farmakoekin trataezina dena. Alabaina, kirurgia egiten den epilepsia mota ohikoena da, kasuen %50-73 suposatzen baitu (Télliez-Zenteno eta Hernandez-Ronquillo, 2012). LLE gehienek anormaltasun epileptogenetikoak loki-lobuluaren erdialdean aurkezten dituzte, hau da, hipokanpoan, amigdalan eta hipokanpo alboko bihurtzean (Engel, 2001).

Ikerketa honetan hipokanpoan zentratuko gara. Izan ere, krisiekiko bereziki sentikorra den eremua da (Walker, 2015). Gizaketan eta karraskarietan kokapen desberdina duen arren, bietan lau eskualde

bereizten dira: *cornu ammonis* (CA) 1, CA2, CA3 eta bihurgune horzduna (BH) (Knierim, 2015) (1. irudia). Hipokanpoa oroimen jardueran parte hartzen duen garunaren eskualdea da (Walker, 2015). LLEdun pazienteek oroimen arazoak aurkeztu dituztela deskribatu da. Adibidez, Butler eta lankideek (2012) ikusi zuten epilepsiak eta hipokanpoaren kalte arinek epe luzera finkatzen den oroimenean eragina dutela.

1. irudia. Karraskariaren hipokanpoaren egituraren irudikapena. Hipokanpoaren lau eskualdeak: CA1, CA2, CA3 eta bihurgune horzduna (BH). CA1aren geruzak: SO, stratum oriens; PI, neurona piramidalen geruza; SR, stratum radiatum; SML, lacunosum moleculare geruza. BHaren geruzak: ML, molekula-geruza; GL, pikor-geruza; H, hilusa. Jiang eta Swann-en (1997) lanetik eraldatua.



Epilepsiadun pertsonen endokannabinoiden (eKB) sisteman ere aldaketak gertatzen direla ikusi da. eKB sistema nerbio-sistema zentralean (NSZ) zehar banatuta dagoen eta sinapsiaren transmisioaren modulazioan laguntzen duen seinaleztapen-sistema konplexua da. Bere jardura oso espezifikoa eta lokalizatua da (Lutz et al., 2015). eKB sistema hurrengoez osatuta dago: 1 motako kannabinoide hartzailea (CB₁R) eta 2 motako kannabinoide hartzailea (CB₂R); horiek kitzikatzeko gai diren lipido endogenoak (eKB), horien artean ezagunenak: anandamida (AEA) eta 2-arakidonoilglicerola (2-AG); eta endokannabinoiden sintesi- eta degradazio-entzimak. Gantz-azido amidohidrolasa (FAAH) eta monoazil glicerol lipasa (MAGL) dira AEA eta 2-AG degradatzen dituzten entzimak, eta N-azilfosfatidiletanolamida-fosfolipasa D (NAPE-PLD) eta α diazilglicerol lipasa (DAGL α) entzimak dira horiek sintetizatzen dituztenak. Arestian esan bezala, sistema honek aldaketak pairatzen ditu epilepsiadun pertsonetan. Adibidez, ikusi da pertsona horien hipokanpoan murrizten direla 2-AGren sintesi entzima (DAGL α), CB₁ hartzailearen mRNA eta CB₁ hartzaileak bukaera kitzikatzaila duen immunoerreaktibotasuna (Ludanyi et al., 2008).

Epilepsia-krisietan zehar neuronek jasaten duten gehiegizko kitzikapenak askotan neurona horien funtzio galera edota zelula heriotza zitotoxikoa dakar (Walker, 2018). Aldi berean, neurona-heriotzak astrogliosi errektiboa eragiten du. Hau da, neuronak kaltetzen diren eskualdeetan, astrozitoen hipertrofia eta hiperplasia gertatzen da (Escartin et al., 2019). Astrozitoak funtzio estruktural, metaboliko eta homeostatiko anitzetan parte hartzen duten glia zelula mota bat dira. Astrozitoek ere CB₁ hartzaileak aurkezten dituzte eta horien bidez neuronaren arteko sinapsian modu aktiboan parte hartzen dute, sinapsi tripartitua deritzon mekanismoaren bitartez (Perea et al., 2009; Gutiérrez-Rodríguez et al., 2018). Coiret eta lankideek (2012) ikusi dute astrozitoen CB₁ hartzaileen aktibazioak neurona kitzikatzaila erantzuna emendatzen duela, epilepsia-krisiak denbora luzeagoan zehar mantentzen direlarik. Haatik, oraindik ez dago oso argi astrozitoek epilepsian duten erantzukizuna.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Arestian esan den moduan, epilepsian gertatzen den gehiegizko neurona-jarduerak zelula heriotza zitotoxikoa eragin dezake. eKB sistemak gehiegizko kitzikapen neuronal hori saihestu lezake. Izan ere, azido kainikoaren (KA) animalia-eredu batean ikusi da eKBek babes funtzioa betetzen dutela: hipokanpoko CB₁R auresinaptikoa aktibatzen dute glutamatoaren gehiegizko askapena inhibitzeko eta, horrela, horrek dakarren heriotza zitotoxikoa ekiditeko (Monory et al., 2006). Are gehiago, beste animalia-eredu batean ikusi da bektore biralen bidez CB₁ hartzailearen adierazpen mailak areagotuz, KAK hipokanpoan eragindako konbultsioen larritasuna eta zelulen heriotza murrizten direla

(Guggenhuber et al., 2010). Beraz, CB₁ hartzailleek krisi epileptikoak kontrolatu eta neuronak ondorengo heriotzatik babes litzakete.

Babes funtzioa ez ezik, hainbat ikerketek erakutsi dute eKB sistemak ikaskuntza- eta oroimen-prozesuetan parte hartzen duela. Esaterako, alzheimer gaixotasunaren animalia-ereduekin egindako ikerketa batean ikusi da CB₁ hartzaillea adierazten ez duten saguek ikasketa- eta oroimen-urritasunak dituztela (Stumm et al., 2013). Gainera, ikusi da kannabisarekiko esposizio akutua zein kronikoa ezagutza-urritasunekin lotuta daudela animalietan, eta gizakietan, batez ere arretarekin, lan-oroimenarekin, ikaskuntza berbalarekin eta oroimen funtzioekin (Puighermanal et al., 2012). Horrez gain, zenbait ikerketek frogatu dute astrozito-seinalizazioak oroimen-prozesuetan parte hartzen duela. Adibidez, astrozitoen CB₁ hartzaileren delezioak identifikazio-oroimena kaltetzen duela ikusi da (Santello et al., 2019). Bestalde, frogatu da marihuanak eragiten duen lan-oroimenaren galera astrogliako CB₁ hartzaileren aktibazioaren ondorioz gertatzen dela (Han et al., 2012). Hala ere, eKB sistemak ezagutzen duen eginkizun fisiologikoa ez dago oso argi oraindik. Izan ere, sistema neuromodulatuzailea denez, ezagutzen parte hartzen duten garuneko eremuetan jarduera espezifiko eta lokalizatua izango du eta, beraz, mekanismo desberdinak aurkeztuko ditu.

Ikerketa honen helburua, alde batetik, loki lobuluko epilepsiaren animalia-eredu batean hipokanpoaren mendekoak diren portaeren aldaketak aztertzea da. Horrela, oroimenean eta habia egiteko gaitasunean dituen eraginak neurtuko dira. Beste alde batetik, maila zelularrean gertatzen diren aldaketak aztertuko dira, CB₁ hartzaileren adierazpenean arreta jarritz.

3. Ikerketaren muina

Azterlan honen helburuak gauzatzeko 8 asteko 27 C57BL/6j sagu ar heldu erabili ziren. Krisi exzitotoxikoen azido kainikoaren (KA) eredu erabili zen LLE ikertzeko. Kainatoa AMPA eta KAren glutamato hartzaileren agonista da eta kitzikapenaren eta inhibizioaren arteko desoreka eragiten du (Nirwan et al., 2018). KAK animalietan eragindako konbultsioek giza LLEren ezaugarrien antzekoak diren neurona galera, astroglia eta hipokanpo esklerosia eragiten dituzte (Nirwan et al., 2018).

Saguak, ausaz, bi taldeetan bereizi ziren: kontrol taldea eta KAren taldea. Kontrol taldeari, soluzio fisiologikoa injektatu zitzaion. KAren taldeari, ordea, azido kainikoa (25mg/kg) gatz-soluzioan diluituta eman zitzaion. KA jaso zuten animaliek intentsitate-maila desberdineko krisiak pairatu zituztenez, eta laborategiko aurretiko beste ikerketa batzuetako esperientzian oinarrituz, animalia horiek bi taldeetan banatu ziren: Racineren eskalan 3tik beherako krisiak izan zituztenak (RE < 3) eta 3tik gorakoak izan zituztenak (RE > 3) (1. taula). Beraz, esperimenduak 3 animalia taldeekin burutu ziren: kontrolak (N = 10), RE < 3 kainatoak (N = 7) eta RE > 3 kainatoak (N = 10).

1. taula. Krisi epileptikoen intentsitate-maila neurtzeko erabilitako Racineren eskala (RE).

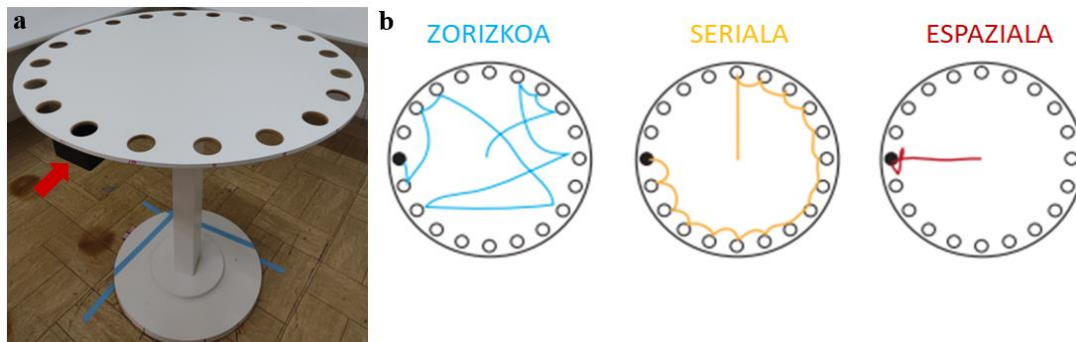
Intentsitate-maila	Sintomak
1	Mugiezintasuna eta begirada finko mantentzea
2	Buztanaren tentetzea eta aurreko gorputz-adarren klonusa
3	Altxatzea eta mugimendu errepikorrak erakustea
4	Altxatzea eta erortzea
5	Etengabe altxatzea eta erortzea
6	Krisi tonikoklonikoak gorputz-jarrera galerarekin, korrika basatia eta saltoak ematea
7	Heriotza

3.1. Barnesen labirintoa: oroimen- eta estrategia- espazialaren testa (BL)

Barnesen labirintoa (BL) saguen oroimen espaziala aztertzeko ingurune lehorreko portaera-proba da (Bach et al., 1995) (2a. irudia). Oroimen mota hori hipokanpoaren mendekoa da. Saguek ihes-kutxa finko baten eta inguruan kokaturiko ikusmen-seinaleen arteko lotura ikasten dute. Sagu bakoitzarekin egunero 4 proba egin ziren 5 egunetan zehar. Saguek ihes-kutxa aurkitzeko hiru bilaketa-estrategia

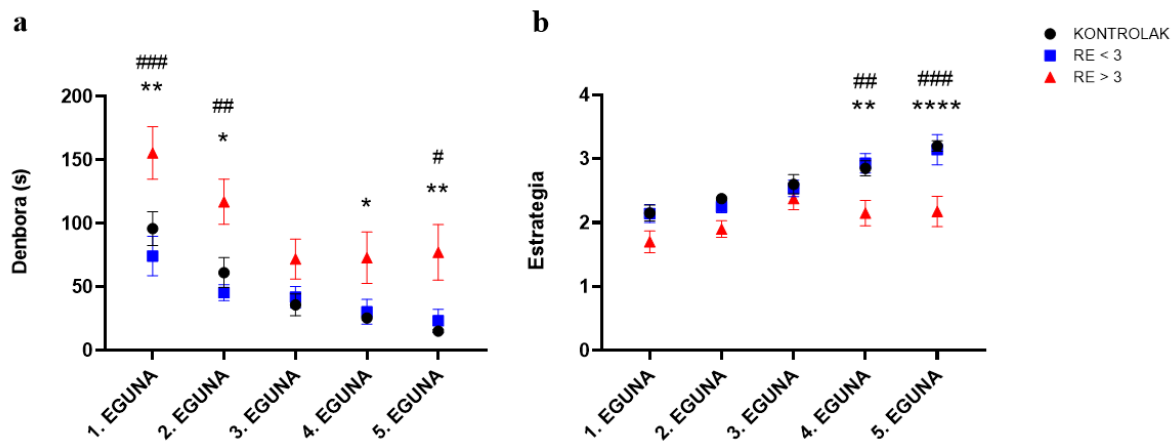
sekuentzia erabili ohi dituzte: zorizkoa, seriala eta espaziala (2b. irudia). Ihes-kutxa aurkitu ezean, aintzat hartzen da saguek ez dutela bilaketa-estrategiarik erabili (estrategiarik gabe). Proba bakoitzean, kutxan sartzeko beharrezkoa izan zitzaizen denbora eta erabilitako estrategia neurtu ziren.

2. irudia. Barnesen labirintoa: a) BLren egitura eta ihes-kutxaren kokapenaren adibide bat (gezi gorria); eta b) saguek erabili ohi dituzten bilaketa-estrategiak.



BL proban sagu taldeen artean desberdintasun adierazgarriak ikusi ziren. Alde batetik, RE > 3 kainateok kontrolak eta RE < 3 kainateok baino denbora gehiago behar izan zuten ihes-kutxa aurkitzeko (3a. irudia). Beste alde batetik, krisi epileptiko larriak izan zituzten saguek ez zuten bilaketa-estrategiarik garatu, oro har ihes-kutxa zoriz aurkitzen baitzuten (3b. irudia). Gainera, bi grafikoetan ikus daitezkeen moduan, 3. egunetik aurrera RE > 3 saguek ez zuten hobera egin. Guzti horrek aditzera ematen du krisi larriak jasan zituzten saguek oroimen espaziala kaltetuta dutela.

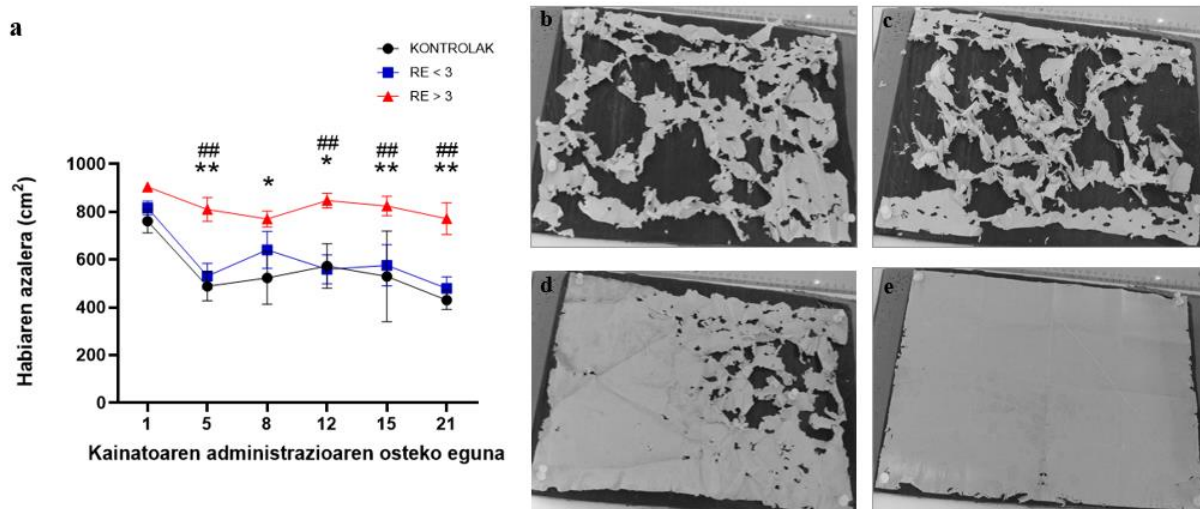
3. irudia. a) Egun bakoitzean ihes-kutxa aurkitzeko behar izandako denbora eta b) egun bakoitzean erabilitako bilaketa-estrategia: 1) estrategiarik gabe, 2) zorizkoa, 3) seriala eta 4) espaziala. Bi bideko Anova testa. * RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa kontrol taldearekin konparatuz (*p<0.05, **p<0.01, ****p<0.0001). # RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa RE < 3 taldearekin alderatuz (#p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001).



3.2. Habia egiteko gaitasuna

Habien eraikuntza hipokanpoaren mendekoa da; izan ere, ikusi da hipokanpoko kalteak habia egiteko gaitasuna murrizten duela saguetan (Jirkof, 2014). Habien eraikuntzarako erabilitako paperezko zapien azaleran ezberdintasun nabarmenak behatu ziren sagu taldeen artean (4a. irudia). Grafikoan zein irudietan ikus daitezkeen bezala, RE > 3 kainateok paperezko zapia nekez eraldatzen zuten habia eraikitzeko (4. irudia). Bestalde, egunak pasa ahala ez zuten habia egiteko gaitasuna berreskuratu. Beraz, emaitzek iradokitzen dute krisi epileptiko larriek hipokanpoaren mendekoa den gaitasun hau kaltetu dutela.

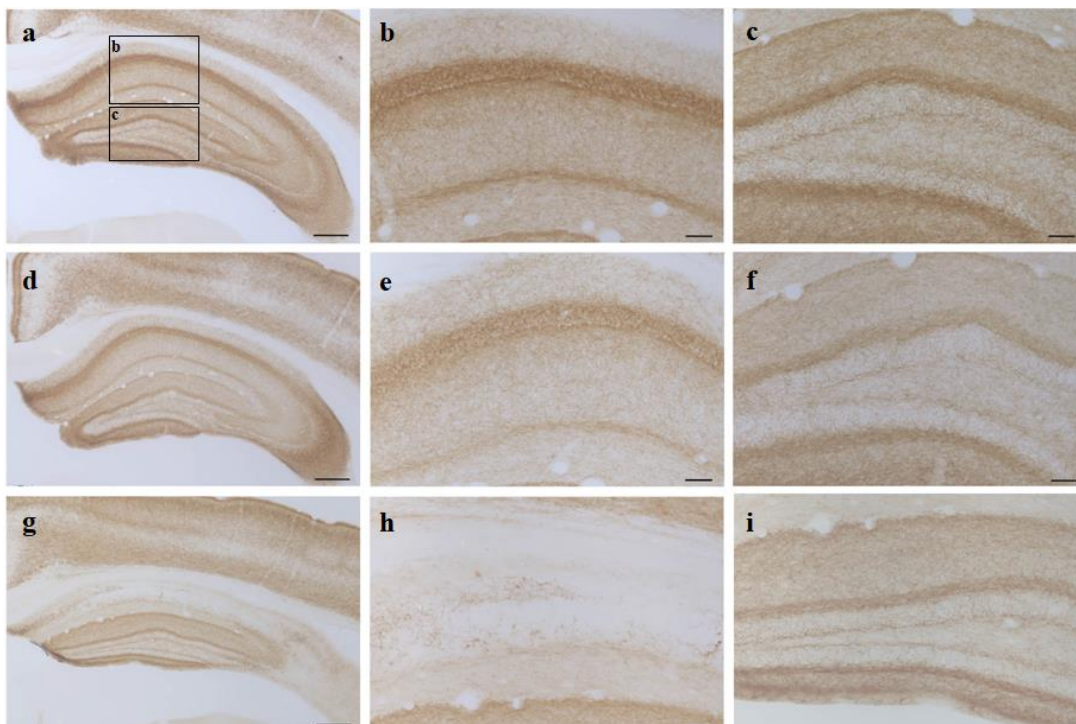
4. irudia. a) Habiaren azaleraren neurketa kainatoaren injekzioetik egun batera, 5, 8, 12, 15 eta 21 egunetara. Bi bideko Anova testa. * RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa kontrol taldearekin konparatuz (*p<0.05, **p<0.01). # RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa RE < 3 taldearekin alderatuz (#p<0.05, ##p<0.01). b-e) Animalia desberdinen habien adibideak KAREN administrazioetik 12 egunetara: b) kontrola, c) RE < 3 kainatoa eta d) eta e) RE > 3 kainatoak.



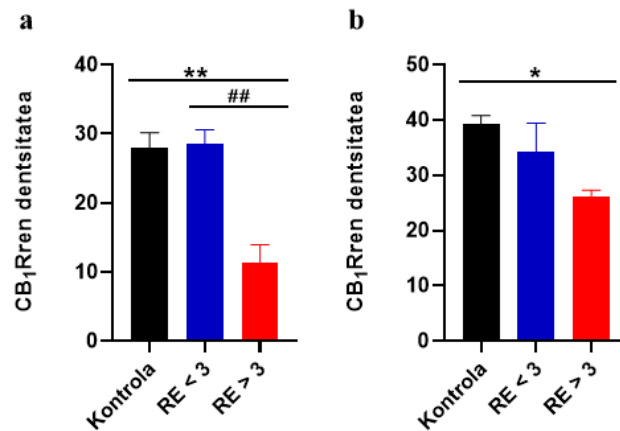
3.3. CB₁ hartzaileren adierazpenaren azterketa

Azido kainikoaren administrazioaren egunetik 30 egunetara saguen hipokanpoa maila zelularrean aztertu zen teknika immunohistokimikoaren bidez. Lehenik eta behin, CB₁ hartzaileren adierazpena mikroskopio optikoaren bidez analizatu zen. 5. irudian ikus daitekeen bezala, RE > 3 kainatoek CB₁ gutxiago adierazten dute hipokanpoan. Are gehiago, hartzaileren dentsitate optikoa modu esangarrian murriztuta dago CA1 eremuan eta bihurgune horzdunean (6a. eta 6b. irudiak hurrenez hurren).

5. irudia. CB₁ hartzaileren immunotindaketa sagu talde desberdinen hipokanpoan: a-c kontrola (gatz-seruma), d-f RE < 3 kainatoa eta g-i RE > 3 kainatoa. a, d, g: CB₁Rren immunotindaketa hipokanpo osoan. b, e, h: immunotindaketa CA1 eskualdean. c, f, i: immunotindaketa bihurgune horzdunean. Eskala barrak: 1000 μm a, d eta g-n; 200 μm gainerakoetan.

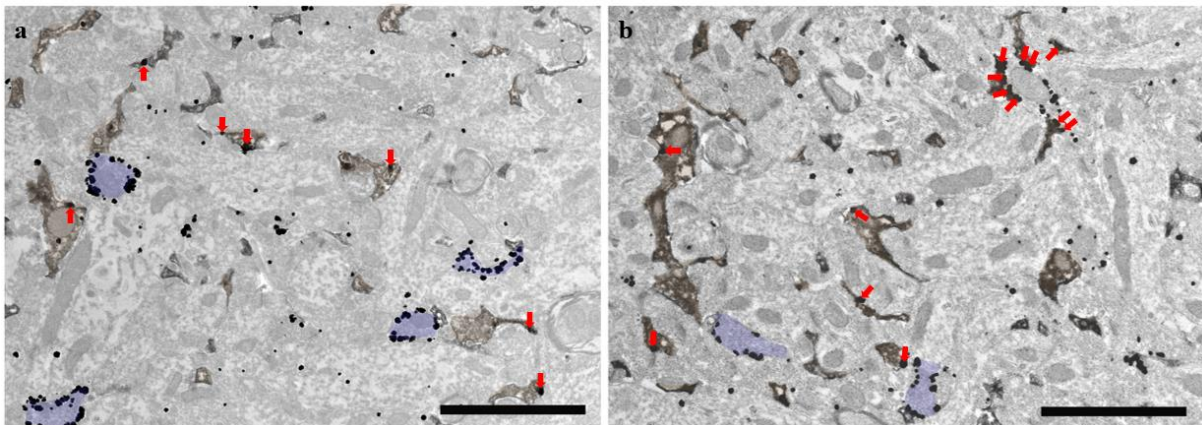


6. irudia. CB₁ hartzailerearen dentsitate optikoaren neurketa: a) CB₁R dentsitatea 26 μm²-ko, CA1 eskualdean eta b) CB₁R dentsitatea 12,5 μm²-ko, bihurgune horzdunean (BH). Kruskal-Wallis testa. * RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa kontrol taldearekin konparatuz (* p < 0,05; ** p < 0,01) . # RE > 3 taldearen esangarritasun estatistikoa RE < 3 taldearekin alderatuz; (## p < 0,01).



Epilepsiadun saguen hipokanpoan maila zelularrean gertatutako aldaketak ikusirik, laginak mikroskopio elektronikoaren bidez aztertu ziren ondoren, erretxinan murgildu-aurreko urre eta peroxidasa bidezko immunomarkaketa konbinatua aplikatuta (Puente et al., 2019). Bertan CB₁ hartzaileren konpartimentu arteko aldaketa behatu dugu. Izan ere, CB₁ hartzailerako positiboak diren bukaera inhibitzaile gutxiago eta daudenak hartzaille dentsitate gutxiagorekin ageri dira. Aldi berean, astrozitoek CB₁ hartzaille gehiago adierazten dituzte. Horrez gain, krisi epileptiko larriak jasan dituzten saguek astrozitoen hipertrofia eta hiperplasia erakusten dituzte, proiektzio gutxiago eta lodiagoak baitituzte (7a. eta 7b. irudiak).

7. irudia. CB₁ hartzailerearen kokapena bukaera inhibitzaileetan (urdinez) eta astrozitoetan (marroiez). a) Kontrola. b) RE > 3 kainatoa. Gezi gorriak: astrozitoen CB₁ hartzailleak. Eskala barrak: 2 μm.



4. Ondorioak

Erabilitako LLeren animalia-ereduaren hipokanpoan eta hipokanpoaren mendekoak diren portaeretan gertatutako aldaketak ikusita hainbat ondorio atera ditzakegu. Alde batetik, esperotakoaren aurka, RE < 3 kainatoek kontrolen antzeko portaerak eta antolaketa zelularra erakusten dituzte. Horrek aditzera ematen du indibiduen artean desberdintasunak egon litezkeela eta sagu batzuk KArekiko sentikortasun handiagoa izatea Bestalde, gerta liteke KA sisteman barrena modu desberdinean zabaltzea, RE < 3 saguen garunera KA kantitate gutxiago iritsiko zelarik. Haatik, oraindik ezezaguna zaigu zergatik KArekiko dosi berak larritasun ezberdineko krisi epileptikoak eragin ditzakeen.

Beste alde batetik, krisi epileptiko larriek bai oroimen-espazialean bai eta habia egiteko gaitasunean ere kalte nabarmenak eragiten ditu. Gainera, RE > 3 saguek CB₁ hartzailearen adierazpen askoz txikiagoa erakusten dute, batez ere CA1 eskualdean. Horrez gain, bihurtune horzdunearan CB₁ hartzailearen kokapen aldaketa gertatzen da, astrozitoen CB₁ hartzaileen adierazpena emendatzen delarik eta bukaera inhibitzaileena murrizten delarik. Azkenik, epilepsia-krisi larriek astrozitoen morfologian ere aldaketak eragiten dituzte.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ikerlan honetan behatutako emaitzek aditzera ematen dute eKB sistema, eta bereziki CB₁ hartzaileak, epilepsiadun saguek erakutsitako memoria-urritasunarekin lotuta daudela. Gainera, baliteke CB₁ hartzailearen adierazpenaren murriztapena krisi epileptikoen larritasunaren erantzuleak izatea. Etorkizunari begira, LLE astrozitoetan CB₁ hartzailearik adierazten ez duten animalietan (GFAP CB₁-KO animalietan) ikertuko da. Horrela, astrozitoetako CB₁ hartzaileek epilepsian duten eragina ezagutu ahaliko dugu. Bestalde, ikerketa honetan erabilitako animalia-ereduan azterketa elektrofisiologikoak burutuko dira, alde batetik, neuronen kitzikagarritasuna eta plastikotasuna ikertzeko; eta beste alde batetik, eKB sisteman eragiten duten farmako ezberdinen efektuak aztertzeo, epilepsia-krisien larritasuna arintzeo asmoz.

6. Erreferentziak

- Bach M.E., Hawkins R.D., Osman M., Kandel E.R., eta Mayford M. (1995): Impairment of spatial but not contextual memory in CaMKII mutant mice with a selective loss of hippocampal ltp in the range of the θ frequency. *Cell*. 81: 905-915.
- Butler, C., Kapur, N., Zeman, A., Weller, R., eta Connelly, A. (2012). Epilepsy-related long-term amnesia: anatomical perspectives. *Neuropsychologia*, 50 (13), 2973-2980.
- Coiret, G., Ster, J., Grewe, B., Wendling, F., Helmchen, F., Gerber, U., eta Benquet, P. (2012). Neuron to astrocyte communication via cannabinoid receptors is necessary for sustained epileptiform activity in rat hippocampus. *PLoS One*, 7 (5).
- Engel Jr, J. (2001). Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned?. *The neuroscientist*, 7 (4), 340- 352.
- Escartin, C., Guillemaud, O., eta Carrillo-de Sauvage, M. A. (2019). Questions and (some) answers on reactive astrocytes. *Glia*, 67(12), 2221-2247.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., ... eta Hesdorffer, D. C. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55 (4), 475-482.
- Guggenhuber, S., Monory, K., Lutz, B., eta Klugmann, M. (2010). AAV vector-mediated overexpression of CB1 cannabinoid receptor in pyramidal neurons of the hippocampus protects against seizure-induced excitotoxicity. *PloS one*, 5 (12).
- Gutiérrez-Rodríguez, A., Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Gómez-Urquijo, S. M., Fontaine, C. J., Egaña-Huguet, J., ... eta Soria-Gómez, E. (2018). Localization of the cannabinoid type-1 receptor in subcellular astrocyte compartments of mutant mouse hippocampus. *Glia*, 66 (7), 1417-1431.
- Han, J., Kesner, P., Metna-Laurent, M., Duan, T., Xu, L., Georges, F., ... eta Liu, Q. (2012). Acute cannabinoids impair working memory through astroglial CB1 receptor modulation of hippocampal LTD. *Cell*, 148 (5), 1039-1050.
- Jiang, M., eta Swann, J. W. (1997). Expression of calretinin in diverse neuronal populations during development of rat hippocampus. *Neuroscience*, 81 (4), 1137-1154.
- Jirkof, P. (2014). Burrowing and nest building behavior as indicators of well-being in mice. *Journal of neuroscience methods*, 234, 139-146.
- Knierim, J. J. (2015). The hippocampus. *Current Biology*, 25 (23), R1116-R1121.

- Ludányi, A., Eröss, L., Czirják, S., Vajda, J., Halász, P., Watanabe, M., ... eta Katona, I. (2008). Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 28 (12), 2976-2990.
- Lutz, B., Marsicano, G., Maldonado, R., eta Hillard, C. J. (2015). The endocannabinoid system in guarding against fear, anxiety and stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 16 (12), 705-718.
- Monory, K., Massa, F., Egertová, M., Eder, M., Blaudzun, H., Westenbroek, R., ... eta Long, J. (2006). The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron*, 51 (4), 455-466.
- Nirwan, N., Vyas, P., eta Vohora, D. (2018). Animal models of status epilepticus and temporal lobe epilepsy: a narrative review. *Reviews in the Neurosciences*, 29 (7), 757-770.
- Perea, G., Navarrete, M., eta Araque, A. (2009). Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends in neurosciences*, 32 (8), 421-431.
- Puente, N., Bonilla-Del Río, I., Achicallende, S., Nahirney, P. C., eta Grandes, P. (2019). High-resolution immunoelectron microscopy techniques for revealing distinct subcellular type 1 cannabinoid receptor domains in brain. *Bio-protocol*, 9(2), e3145-e3145.
- Puighermanal, E., Busquets-Garcia, A., Maldonado, R., eta Ozaita, A. (2012). Cellular and intracellular mechanisms involved in the cognitive impairment of cannabinoids. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367 (1607), 3254-3263.
- Santello, M., Toni, N., eta Volterra, A. (2019). Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment. *Nature neuroscience*, 22 (2), 154-166.
- Stumm, C., Hiebel, C., Hanstein, R., Purrio, M., Nagel, H., Conrad, A., ... eta Clement, A. B. (2013). Cannabinoid receptor 1 deficiency in a mouse model of Alzheimer's disease leads to enhanced cognitive impairment despite of a reduction in amyloid deposition. *Neurobiology of aging*, 34 (11), 2574-2584.
- Téllez-Zenteno, J. F., eta Hernández-Ronquillo, L. (2012). A review of the epidemiology of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy research and treatment*, 2012.
- Walker, M. C. (2015). Hippocampal sclerosis: causes and prevention. *Seminars in neurology* (Vol. 35, No. 03, pp. 193-200). Thieme Medical Publishers.
- Walker, M. C. (2018). Pathophysiology of status epilepticus. *Neuroscience letters*, 667, 84-91.
- World Health Organization. (2019). Epilepsy: a public health imperative: summary (No. WHO/MSD/MER/19.2). World Health Organization.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan honek hainbat erakunderen diru laguntza izan du: Eusko Jaurlaritza (IT1230-19 eta Europar Batasunaren Europako Eskualde Garapenerako Funtza (ERDF-EU; RD16/0017/0012); MINECO/FEDER, UE (SAF2015-65034-R); Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107548RB-I00); JEH doktorearen kontratua (PIC 280/20), eta IBDR doktorearena (BES-2016-076766); ESG doktoreak Ikerbasque eta MINECO funtza (MICIU/AEI/FEDER-EU; PGC2018-093990-A-I00); MS, LL, IT eta SA-ren Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko ikertzaileen kontratuak (PIF 19/164; PIF 18/315; PIF 17/292 eta PIF 16/251) eta AM-ren Eusko Jaurlaritzako doktoratu aurreko ikertzaile kontratua