



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

OSASUN ZIENTZIAK

**Epe luzerako ondorioak loki-
lobuluko epilepsia sagu-eredu
baten garunean**

*Garazi Ocerin, Ilazki Anaut Luser,
Amaia Mimenza Saiz,
Leire Lekunberri Odriozola,
Maitane Serrano Murgia,
Edgar Soria Gómez,
Inmaculada Gerrikagoitia Marina,
Irantzu Rico Barrio,
Nagore Puente Bustinza,
Jon Egaña Huguet,
Izaskun Elezgarai Gabantxo
eta Pedro Grandes Moreno*

159-166 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.04.20>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Epe luzerako ondorioak loki-lobuluko epilepsia sagu-eredu baten garunean

Garazi Ocerin^{1,2}, Ilazki Anaut-Lusar^{1,2}, Amaia Mimenza^{1,2}, Leire Lekunberri^{1,2}, Maitane Serrano^{1,2},
Edgar Soria-Gómez^{1,2,3}, Inmaculada Gerrikagoitia^{1,2}, Irantzu Rico-Barrio^{1,2}, Nagore Puente^{1,2},
Jon Egaña-Huguet^{1,2}, Izaskun Elezgarai^{1,2}, Pedro Grandes^{1,2}

(1) Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia),

(2) Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHUko Zientzia Parkea (UPV/EHU,

Leioa, Bizkaia), (3) Ikerbasque, Basque Foundation for Science

gocerin003@ikasle.ehu.eus

Laburpena

Loki-lobuluko epilepsia helduetan ematen den epilepsia mota ohikoena da. Eskuragarri dauden farmakoek neuronan gehiegizko kitzikagarritasuna murrizten duten arren, beti ez dira eraginkorrak izaten. Gaur egungo ikerketak gaitzean aktibatutako mekanismo neuroinflamatorioen kontrolean oinarritzen dira. Hartara, garuneko zelula ez neuronalak eta sistema endokannabinoida itu terapeutiko gisa proposatu dira. Izan ere, neuroinflamazioarekin erlazionaturik dauden glia zelulek kannabinoide hartzaileak adierazten dituzte. Ikerketa honetan, glia zelula eta kannabinoide sisteman gertatutako aldaketak eta burmuinean zehar erasandako eskualdeak aztertu dira loki-lobuluko epilepsia sagu ereduaren. Era ohargarrian, aldaketa anatomiko hauek kognizio (oroimenean) eta emozio-egoeretan (antsietatea) eragina dute.

Hitz gakoak: loki-lobuluko epilepsia; astrozitoak; mikroglia; CB1 hartzailea

Abstract

Temporal lobe epilepsy is the most common type of epilepsy in adults. Although available anticonvulsants reduce the excessive neuronal excitability, they are not always effective. Nowadays research focuses on the control of neuroinflammatory mechanisms switched on in epilepsy. Hence, non-neuronal brain cells and the endocannabinoid system have emerged as potential targets because the role of this system in neuroinflammation mediated by cannabinoid receptor-expressing glial cells. We show changes in glial cells and the cannabinoid 1 (CB1) receptor, the main target of endogenous and exogenous cannabinoids, throughout brain regions in a mouse model of temporal lobe epilepsy. Remarkably, these anatomical changes impact on cognition (memory) and behavioral states (anxiety).

Keywords: temporal lobe epilepsy; astrocytes; microglia; CB1 receptor

1. Sarrera eta motibazioa

Munduko Osasun Erakundearen arabera, 50 miloi pertsona inguruk pairatzen dute epilepsia gaitza, asaldura neurologiko ohikoena izanik. Hortaz, garrantzizko osasun arazotzat hartu beharra dago (Cheung et al., 2019; Victor et al., 2020).

Helduen epilepsia mota ohikoenen artean loki-lobuluko epilepsia (LLE) dago. Asaldura honen jatorria askotarikoa izan daiteke; faktore genetikoez gain, burmuin-hodietako istripuak, infekzioak eta garun lesio traumatikoak barne hartzen dituena (Cheung et al., 2019).

Egungo konbultsioen aurkako farmakoak neuronek jasango luketen asalduran ardatzen dira. Baina sintomatologia arintzea lortu dezaketen arren, ez dute gaitzaren garapena, hau da, prozesu epileptogenoa, eteten (Binder et al., 2021). Zehazki, epilepsian gertatzen den neuronan gehiegizko kitzikagarritasun maila gutxitzen oinarritzen dira hauek, konbultsio maila murriztea ahalbidetuz.

Hala ere, paziente orok ez diote tratamenduari modu egokian erantzuten. LLE pairatzen duten pazienteen herenak egun merkatuan dauden farmakoekiko erresistenteak dira. Horren eraginez, epilepsia kronikoan, kaltea jatorrizko foku epileptikoez at, eremu zehatzetara zabaltzeko arriskua dago (Toro-Pérez et al., 2020). Prozesu horren bilakaera zeharo ezezaguna da gaur gaurkoz. Gainera,

mugatu ezin diren konbultsio horiei, pazienteen egunerokotasuneko bizitzan gaitz kognitiboek duten munta gaineratu behar zaie (Dai et al., 2021).

Epileptogenesia murriztuko luketen farmakoak garatzea beharrezkotzat jotzen da, hartara. Hala ere, bitartekaritza eta bilakaera mekanismoak, oraindik, ez dira guztiz ezagunak (Binder et al., 2021). Azken urteetako ikerketek adierazi dute epilepsian izaera anitzeko zelula-moten funtzionamendu bateratu ezegokia gertatzen dela, non inflamazio prozesuak berebiziko garrantzia duen (Eyo et al., 2017; Morin-Brureau et al., 2018; Sanz et al., 2020).

Epilepsia gaixotasunaren konplexutasuna ikusiz, azken urteetan, bere tratamendurako itu terapeutiko berriak bilatze aldera, espektro zabaleko eragina duen endokannabinoiden sisteman jarri da arreta. Sistema hori epilepsiaren estrategia terapeutiko berritzaile eta itxaropentsutzat jotzen da (Sugaya et al., 2022). Izan ere, endokannabinoiden sistema neuromodulatzailerik izateaz gain, inflamazio prozesuetan parte hartzen duela ikusi da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Garunaren funtzionaltasun egokia eman dadin, zenbait zelula mota espezializaturen elkarreragina ezinbestekotzat jotzen da. Orain arteko ikerkuntza gehienak neuronon arteko harremanean (sinapsia) oinarritu dira. Sinapsiak kimikoak edo elektrikoak izan daitezke. Sinapsi kimikoan bulkaden garraioa substantzia kimiko endogenoen askapenaren bidez egiten da (neurotransmisoreak). Sinapsi aurreko neuronan askatzen diren neurotransmisore horiek, sinapsi ondorengo neuronon hartzaileetara lotuko dira. Alegia, neurotransmisoreak neuronon edo beste zelula mota batzuen arteko seinaleak garraiatzen, indartzen eta modulatu dituzte dagokien ituan jardun ondoren. Prozesu horri neurotransmisioa deritzo (Squire et al., 2012).

Epilepsia gaitzean neuronon gehiegizko aktibitatea dela eta, neurotransmisio kitzikatzailea (glutamatoa, batez ere) areagotzen da eta, ondorioz, neurotransmisio kitzikatzaile eta inhibitzailearen (γ -aminobutiratoa: GABA) arteko desoreka gertatzen da (1. irudia) (Andoh et al., 2020; Victor et al., 2020).

Gaitz horri aurre egiteko bestelako jomuga terapeutikoak ikertze asmoz, zenbait lanek sistema endokannabinoiden jarri dute arreta. Izan ere, sistema endokannabinoiden transmisio sinaptikoaren mekanismo homeostatiko gisa parte hartzen du (Navarrete et al., 2014).

Endokannabinoiden sinapsi ondorengo neuronetatik askatzen dira tarte sinaptikora eta sinapsi aurreko neuronan aurkitzen diren CB1 hartzaile kannabinoiden kitzikatzen dituzte; beharren arabera, gehiegizko glutamato edo GABA bezalako neurotransmisore nagusien askapena inhibitzeko. Orokorrean, sinapsi kitzikatzaileetan endokannabinoiden seinaleztapenak glutamatoaren askapena inhibitzen du (1. irudiko "a" atala) eta sinapsi inhibitzaileetan, aldiz, GABA askapena inhibituz kitzikagarritasuna sustatzen du (Sugaya et al., 2022).

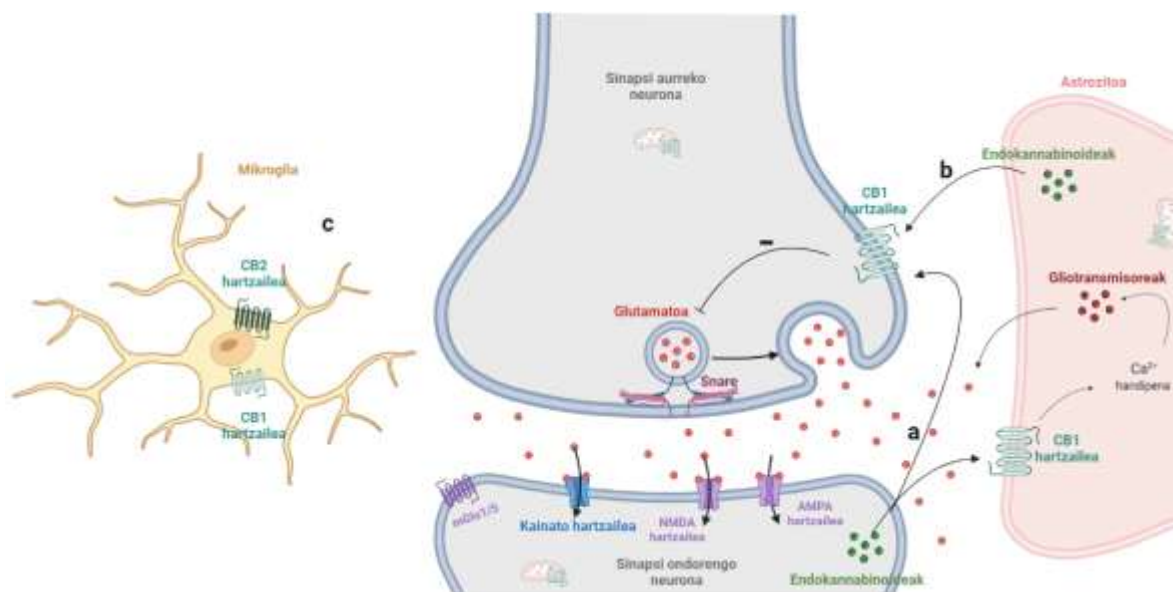
Epilepsia gaitzean, hartara, kannabinoiden sisteman eragitea gehiegizko kitzikagarritasun hori kontrolatzeko aukera terapeutiko egokia izan daitekeela iradoki da. Kannabinoiden endogenoen askapenaren bitartez (anandamida edo arakidoniletanolamida (AEA), eta 2-arakidonilglicerola (2-AG) eikosanoideak), gehiegizko aktibitate neuronala modulatu litzateke kannabinoiden hartzaileen gain eragin ostean (1. irudia) (nagusiki, ingelesetik *cannabinoid receptor type 1*; CB1R) (Rosenberg et al., 2017). Hala nola, transmisio sinaptiko kitzikatzailearen inhibizio iragankorra gertatzen da (1. irudiko "a" atala) (Sugaya et al., 2022).

Neurona-neurona arteko erlazioaz gain, orain dela urte gutxira arte neuronon egitura, metabolismo eta elikadura euskarritzat hartu izan diren glia zelulak berebiziko indarra hartzen hasi dira ikerketan. Hala nola, astrozitoak eta mikroglia, besteak beste (Eyo et al., 2017; Sanz et al., 2020).

Astrozitoak dira horien artean ugarienak. Glia zelula hauek neurotransmisoreen hartzaile funtzionalak adierazten dituztela frogatu zenetik, sinapsien partaide gisa gailentzen ari dira (1. irudiko "b" atala) (Navarrete et al., 2014).

Horren harira, CB1 hartzaiak nagusiki neuronen sinapsi aurreko bukaeretan aurkitzen direla aipatu arren, maila baxuagoan sinapsi osteko eremuan zein astrozitoetan (1. irudiko “b” atala) aurki daitezke (Meng et al., 2014; Rosenberg et al., 2015; Stella et al., 2010).

Astrozitoetan zentraturiko ikerketek frogatu dutenez, estimulatoriko neuronagatik askaturiko endokannabinoideek hurbileko astrozitoetako CB1 hartzaiak aktibatzen ditu. Horrek glutamato askapena eta ondorengo sinapsi ondorengo neuronan glutamato hartzaiaren aktibazioa, eta aldameneko neuronetako transmisio sinaptikoaren indartze iragankorra bultzatzen du (1. irudiko “b” atala) (Navarrete et al., 2014). Beraz, astrozitoetan adierazten diren hartzaiak kitzikatzeak, hiperkitzikagarritasuna emendatu dezake. Hala ere, gaur gaurkoz, ez da ezagutzen kitzikapen horrek epilepsian izan dezaketen ondorioa.



1. **Irudia.** Endokannabinoide sistemaren antolaketa nerbio-sistema zentratean. Sinapsi ondorengo neuronan glutamatoa bere hartzaiak diren kainato, mGlu1/5, NMDA eta AMPA hartzaiari lotzen zaie informazio sinaptiko kitzikatzailerak bideratuz. CB1 hartzaiak neuronan bukaera sinaptikoetan eta astrozitoetan adierazten dira. Neuronen sinapsi osteko eremutik eta astrozitoetatik endokannabinoideak ekoitz daitezke. Endokannabinoide horiek sinapsi aurreko CB1 hartzaietan eragiterakoan neurotransmisore askapena murriztuko da, gehiegizko kitzikagarritasuna murriztuz. Astrozitoetako CB1 hartzaiak kitzikatzerakoan, aldiz, urruneko eremuetako glutamato askapena emendatu daiteke, eta beraz kontrako efektua bultzatu. Mikroglia zelulek CB2 eta CB1 hartzaiak adieraz ditzaketela ikusi da. Irudia *BioRender* deritzon irudi eta ilustrazio zientifikoko aplikazioa erabiliz egina da.

Astrozitoez gain, aipatzekoa da epilepsian gertatzen den neurona endekapenak bultzatuko mikroglia zelula fagozitikoaren aktibazioa (Sanz et al., 2020).

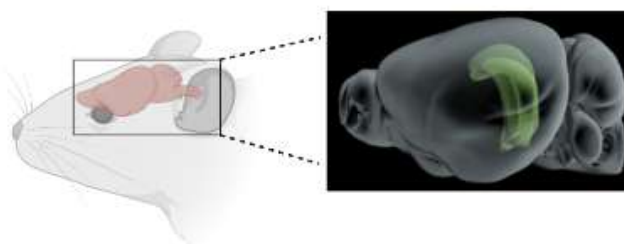
Astrozito eta mikroglia aktibazioak zuzenean du zerikusi epilepsia gaitzean gertatzen den inflamazioarekin. Izan ere, inflamazioan askatzen diren zitokinek eta kimiozinek mikroglia aktibatzen dute erantzun immune primario gisa. Epilepsia kasuan gertatzen den neurona endekapenak, era berean, mikroglia aktibazioa dakarrela ikusi da. Mikroglia aktibatu horrek astrozitoen erreakzioa bultzatuko du eta sorgin gurgil baten gisara, astrozito erreaktiboak mikroglia aktibatuko duten osagaiak ekoitziko dituzte, prozesua kronifikatuz (Sanz et al., 2020). Mikroglia ere kannabinoide hartzaiak dituela frogatu da eta hartzai horietan eraginez mikroglia morfologian eragin daitekeela frogatu da (CB1 eta CB2 hartzaiak) (Ruiz de Martín Esteban et al., 2022; Terradillos et al., 2023)

Horren harira, epilepsia aurkako nazioarteko elkarteko Europako batzordeak (ingelesezko, *European Commission of the International League Against Epilepsy*) inflamazioak konbultsioen eta epileptogenesiaren garapenean izan dezakeen eginkizunari buruzko lanak aintzat hartu ditu, ikerketen lehentasun gorenena izatea azpimarratuz (Sanz et al., 2020).

Hau guztia kontuan izanik, etorkizunean kannabinoideetan oinarritutako itu terapeutikoak diseinatze aldera, garrantzitsua da epilepsian glia zeluletan eta kannabinoide sisteman gertatzen diren aldaketak ondo ezagutzea.

Horiek horrela, loki-lobuluko epilepsiaren animalia ereduak erabiliz, epe luzera asaldatuta agertzen diren eskualdeak xehatuko dira ondorengo lanean, fokua glia zelula eta endokannabinoide sisteman jarritz. Zehazki, astrozitoak, mikroglia eta CB1 hartzailleak aztertuko dira. Horrez gain, kaltetutako eskualdeak portaera aldaketekin erlazionatu daitezkeen aztertuko da.

3. Ikerketaren muina



2. **Irudia.** Sagu baten garunean hipokanpoa (loki-lobuluko eremu neuroanatomikoaren baitan) hiru dimentsiotan adierazita. *The allen brain atlas* eta *BioRander* aplikazioetatik eskuratutako eta moldaturiko irudiak.

Eremu epileptogeno primarioa (2. irudia) loki-lobuluan aurkitzen den animalia-eredua sortze asmoz, kainatoaren ereduak hautatu zen. Loki-lobuluan aurkitzen den eremu neuroanatomikoan, hipokanpoan, azido kainikoarekiko (glutamatoaren analogo bat) afinitate handidun hartzaille glutamatergikoak adierazten dira (1. irudia) (Eyo et al., 2017). Horren eraginez, eremu neuroanatomiko horrek jasango du kalterik nabariena.

Azido kainikoak dagokion hartzaille glutamatergikoarekin elkarreragitearen ondorioz (1. irudia), neurotransmisio kitzikatzailea (glutamatoa) handituko da, inhibizio (GABA) eta kitzikapenaren oreka hautsiz eta, hartara, konbulsioak bultzatuz. Hau da, epileptogenesi prozesua martxan jarriko da.

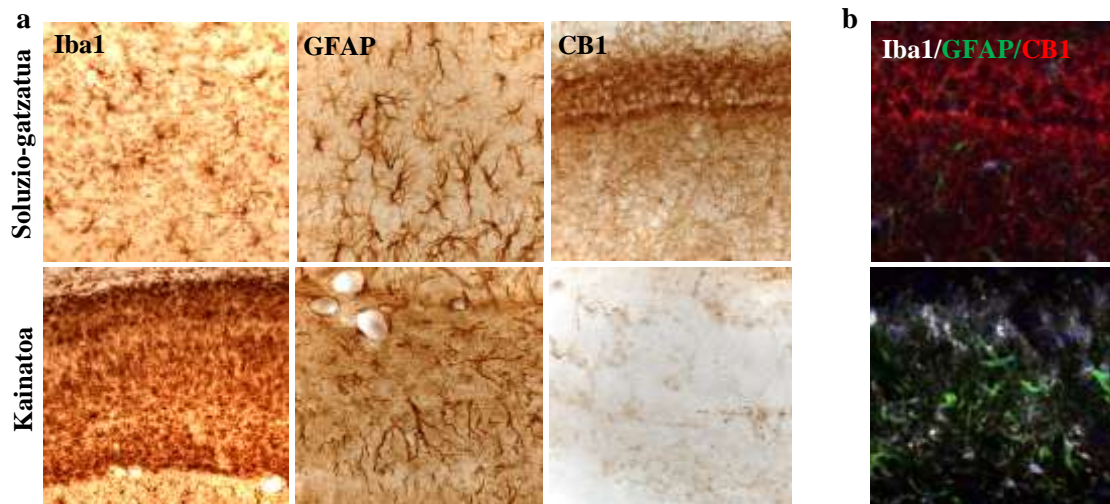
Epilepsia gaitzean neurotransmisio desorekak eragindako konbulsioen larritasuna, Racine-eskala (RE) erabiliz ebaluatu zen. Racine-eskala horretan zazpi maila xedatzen dira, azido kainikoaren administrazioaren ondoren saguek nozitzen dituzten sintometan oinarritzen dena (Racine, 1972). Ikerkuntza honetarako erabilitako animaliek 3.mailatik gorako eraginak pairatu zituzten (RE > 3).

Kainatoaren aplikaziotik epe luzera (hila batetara, zehazki) neuroinflamazio markatzaileetarako batzuk (astrozito eta mikroglia) eta sistema endokannabinoidearen elementu nagusia den CB1 hartzaillearen adierazpen maila aztertu zen hipokanpoan (3. irudia) eta beste zenbait garun eremuetan. Horretarako, antigeno-antigorputz erreakzioan oinarritzen diren bi teknika immunohistokimiko erabili ziren; bat fluoreszentsian oinarritutakoa eta bestea DAB kromogenoan oinarritutakoa (abidina-biotina peroxidasa teknika). Hala nola, antigorputz horiek adierazten dituzten zelulak markatuta agertuko zaizkigu teknika horien bitartez.

Mikroglia aktiboa agerian jartzeko, Ionizatutako Kaltzioari lotzeko egokitze-molekula 1 (ingelesetik, *Ionized calcium binding adaptor molecule 1*; Iba1) deritzon antigorputza erabili zen. Astrozito erreaktiboak markatzeko, aldiz, gliaren zuntz-proteina azidikoa 1 (ingelesetik, *glial fibrillary acidic protein*; GFAP) antigorputza. Azkenik, 1 motako hartzaille kannabinoierako, 1 motako hartzaille kannabinoidea (ingelesetik, *cannabinoid receptor type-1*; CB1) ezagutzen duen antigorputza erabili zen.

Aldaketa nabarmenenak loki lobuluko hipokanpo formazioak erakutsi zituen (3. irudia). Hipokanpoan Ibalek agerian jartzen zuen mikroglia aktiboa. Era berean, GFAPk azaleratzen duen astrozito erreaktibo kopurua ere handia zen. CB1 hartzailleari dagokionez murrizketa sakona ikusi zen. Aldaketa horiez gain, Iba1 markaketa hipokanpotik kanpo, bestelako eskualde zehatzetara zabaltzen

zela azaleratu zen; hala nola, kortex eskualde zehatzetara eta talamora. GFAP bidezko astrozitoen markaketa biziari dagokionez, Iba1 markaketa erakusten duten eremu berdinean atzeman ziren, baina Iba1k baino eremu zabalagoak hartuz. CB1 hartzaillearen aldaketa nabariak (CB1 hartzaillearen murrizpena), hipokanpora mugatzen ziren (3. irudia). Oro har, LLE kronikoan neuroinflamazioa hipokanpoaz gaindiko eremu neuroanatomikoetara hedatzen zela ikusi zen.

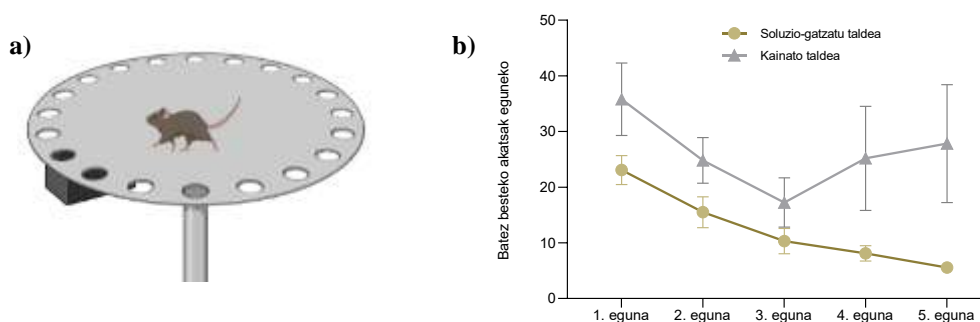


3. **Irudia.** Iba1, GFAP eta CB1 hartzaille markaketak gune epileptogeniko primarioan (hipokanpoan). Kainato eremuan glia zelulen morfologia aldaketa nabaria eta CB1 hartzaillearen muturreko murrizketa atzeman daiteke. Irudietan antígeno-antigorputz erreakzioan oinarritzen diren teknika bi adierazten dira; zehazki: a) abidina-biotina peroxidasa teknika eta b) immunofluoreszentzia. Aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).

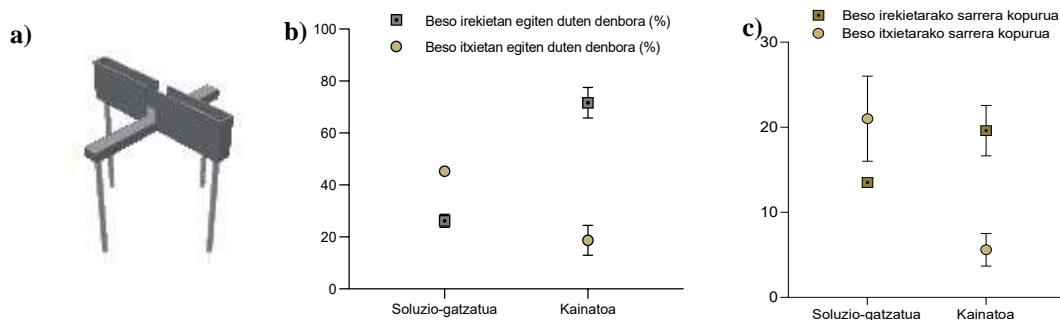
Azido kainikoaren LLE eremuan kaltetutako eremuak aztertu ondoren, erasandako eskualde horiek portaerarekin zer nolako eragina izan zezaketen aztertu zen. Horretarako, Barnes eta gurutze goratuaren labirintoaren probak egin ziren (4 eta 5. irudietako “a” atalak).

Barnes labirintoa (BL) deritzonak (4. irudiko “a” atala), lan-memoria espaziala, erreferentzia espazialaren memoria (epe labur eta/edo luzekoa) eta malgutasun kognitiboa neurtzea ahalbidetzen duen labirintoa da. 20 zulutako mahai goratu bat da, non erreferentzia optikoak jartzen diren animaliak ihes kutxa aurki dezan. Gurutze goratuaren labirintoa (5. irudiko “a” atala), ostera, karraskarietan herstura-portaerak neurtzeko probari deritzo (Walf et al., 2007); karraskarietarako eragile anti-sigenikoak diren eremu goratuak ditu eta (Carola et al., 2002). Labirintoa bi beso irekiz (eremu anti-sigenikoagoa) eta bi beso itxiz (babes eremua) osatuta dago (5. irudia).

BL probari dagokionez, kainato taldeak, soluzio-gatzatu taldearekin alderatuz gero, akats gehiago egiten zituela ikusi zen. Akats kopurua egunak pasa ahala, kainato taldean handitzen zihoan (4. irudia).



4. **Irudia. Barnes labirintoaren proba.** a) BLren eskema grafikoa eta b) BL proban egunak aurrera egin ahala gertatzen diren batez besteko akatsak. Análisi estatistikorako Kruskal Wallis testa erabili zen. Azkeneko eguneko aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).



5. **Irudia. Gurutze goratuaren labirintoaren proba.** a) Gurutze goratu labirintoaren eskema grafikoa, b) beso ireki eta itxietan igarotzen duten denbora eta c) beso bakoitzerako sarrera kopurua. Análisi estatistikorako Kruskal Wallis testa erabili zen. Aldaketak estatistikoki esanguratsuak izan ziren ($p < 0,05$).

Gurutze goratuaren labirintoaren probari dagokionez, berriz, aintzat hartzekoa da kainato taldeak beso irekietan igarotako denbora tarte luzea. LLE sagu ereduak beso irekiak hobesten ditu, soluzio-gatzatu taldearekin alderatuz. Era berean, animalia hauek beso bakoitzera duten sarrera kopuruan joera bera ikusten da (5. irudia).

4. Ondorioak

Ikerketa honetan agerian geratu da LLEan epe luzera (30 egunetara) gertatzen diren aldaketak glia zeluletan zein kannabinoide sisteman gertatzen direla. Aldaketa larrienak, LLEaren foku primarioan gertatzen dira (hipokanpoan, hain zuzen ere). Bertan mikroglia eta astrozitoetan gertatzen diren aldaketa morfologikoak muturrekoak dira, zeina glia zelulen aktibazioaren adierazleak diren. Muturreko gliosi hori jasaten duten eskualdeek CB1 hartzailearen murrizketa nabarmena erakusten dutela ere behatu da; CB1 hartzailea adierazten duten neuronon heriotzaren isla izan daitekeena edo, aitzitik, gehiegizko kitzikagarritasunaren ondorioz gertatutako espresio murrizketa. Zalantza horiek ikertzeaz daude. Gune primario hortaz gain, ikerketa honek epilepsia foku berriak garatu daitezkeela aditzera eman du. Izan ere, loki lobulutik kanpoko eremu neuroanatomiko zehatzetan maila txikiagoko erreakzio gliala atzeman da.

Zenbait lanek aditzera eman badute ere gaitzaren hasieran gertatzen den gliosia onuragarria izan daitekeela, neurrigabeko gliosi erreaktiboak, gehiegizko inflamazioa, heriotza neuronala eta ehun kalteak sor ditzake (Patel et al., 2019). Oro har, ikerketa honen emaitzek, egokiro kontrolatua ez den epilepsia (kronikoak) izan dezakeen eragin kaltegarria azalartzen dute.

Arestian aipatu bezala, konbultsioen aurkako egungo farmakoek neuronan gehiegizko kitzikagarritasuna moteltzen duten arren, ez dute prozesu epileptogenoa (gaitzaren garapena) eragozten (Rosenberg et al., 2015; Binder et al., 2021). Mugatu ezin diren konbultsio hauei, bestalde, pazienteen egunerokotasuneko bizitzan gaitz kognitiboak duten munta gaineratu behar zaie (Dai et al., 2021). Izan ere, LLEan antsietatea eta depresioa bezalako gaitz psikiatrikoek gain, narritadura kognitibo, ikaskuntza eta portaera narritadurak ere agertzen dira maiz (Vinti et al., 2021); pazienteen bizi-kalitatea nabarmen okertuz.

Gure ikerketan behatutako portaera aldaketak adierazi dutenez, saguek hipokanpoarekin erlasionaturiko narritadura kognitiboak izaten dituzte; batez ere, memoria espazialean islatzen dena. Hala ere, animalia hauek memoria galerak izateaz gain, bestelako ezohiko portaerak aurkezten dituzte. Alegia, oldarkortasun handiagoa. Zentzu horretan, lortu ditugun portaera frogen emaitzak ere bat datoz hipokanpoaz gain behatu ditugun eskualde erasotuekin (Bryant et al., 2020; Kummer et al., 2020). Hau da, hipokanpo formazio den foku primario horretatik hedatzen den gehiegizko kitzikagarritasunak gune berriak hartzen ditu eta, horrek, eragina du animalien portaeran.

Gizakietan ikusitako portaera nahasteak bat datoz neuroinflamazioa agertzen duten gune neuroanatomiko horiekin. Oro har, LLE hipokanpoko patologia bezala gailentzen bada ere, hipokanpoko sare epileptogenikotik haratagoko zirkuituen arteko lotura erabakigarrien presentzia eta eraginak aintzat hartu behar dira aurrerantzean.

Modu horretan, LLE gaitza agertzen den aldian, kaltearen garapen geldi ezina ematen denez, gune epileptogeniko primarioen garapena eta sekundarioen agerrera saihestea jomuga terapeutiko interesgarria izan daiteke. Pazienteen egunerokotasuneko bizitzan sortuko liratekeen oztopo kognitiboak mugatzea ahalbidetuz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

LLE sagu garunean mikroglia, astrozito eta CB1 hartzailearen aldaketak ikusi dira epe luzera. Hala ere, erabiliko teknikak ez dute sistema endokannabinoidaren parte den CB1 hartzailearen kokapena zehazten. Hala nola, CB1 hartzailearen aldaketak neuronei edo glia zelulei dagozkien zehazteko, ultraegitura mailako azterketak egingo dira mikroskopia elektronikoaren bidez.

Horrez gainera, kannabinoideetan oinarrituriko farmakoak erabiliz (Epidolex[®], esaterako), neuroinflamazioak eta gehiegizko aktibitate neuronalak bere onera egingo lukeen aztertuko da.

6. Erreferentziak

- Andoh, M., Ikegaya, Y., & Koyama, R. (2020). Microglia modulate the structure and function of the hippocampus after early-life seizures. *Journal of pharmacological sciences*, 144(4), 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.09.003>
- Binder, D. K., & Steinhäuser, C. (2021). Astrocytes and Epilepsy. *Neurochemical research*, 46(10), 2687–2695. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03236-x>
- Bryant, K. G., & Barker, J. M. (2020). Arbitration of Approach-Avoidance Conflict by Ventral Hippocampus. *Frontiers in neuroscience*, 14, 615337. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.615337>
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*, 134(1-2), 49–57. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00452-1)
- Cheung, K. A. K., Peiris, H., Wallace, G., Holland, O. J., & Mitchell, M. D. (2019). The Interplay between the Endocannabinoid System, Epilepsy and Cannabinoids. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 6079. <https://doi.org/10.3390/ijms20236079>
- Dai, Y., Song, Y., Xie, J., Xu, S., Li, X., He, E., Yin, H., & Cai, X. (2021). In Vivo Microelectrode Arrays for Detecting Multi-Region Epileptic Activities in the Hippocampus in the Latent Period of Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Micromachines*, 12(6), 659. <https://doi.org/10.3390/mi12060659>
- Eyo, U. B., Murugan, M., & Wu, L. J. (2017). Microglia-Neuron Communication in Epilepsy. *Glia*, 65(1), 5–18. <https://doi.org/10.1002/glia.23006>
- Kummer, K. K., Mitrić, M., Kalpachidou, T., & Kress, M. (2020). The Medial Prefrontal Cortex as a Central Hub for Mental Comorbidities Associated with Chronic Pain. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3440. <https://doi.org/10.3390/ijms21103440>
- Meng, X. D., Wei, D., Li, J., Kang, J. J., Wu, C., Ma, L., Yang, F., Zhu, G. M., Ou-Yang, T. P., Liu, Y. Y., & Jiang, W. (2014). Astrocytic expression of cannabinoid type 1 receptor in rat and human sclerotic hippocampi. *International journal of clinical and experimental pathology*, 7(6), 2825–2837.
- Morin-Brureau, M., Milior, G., Royer, J., Chali, F., Le Duigou, C., Savary, E., Blugeon, C., Jourden, L., Akbar, D., Dupont, S., Navarro, V., Baulac, M., Bielle, F., Mathon, B., Clemenceau, S., & Miles, R. (2018). Microglial phenotypes in the human epileptic temporal lobe. *Brain : a journal of neurology*, 141(12), 3343–3360. <https://doi.org/10.1093/brain/awy276>
- Navarrete, M., Díez, A., & Araque, A. (2014). Astrocytes in endocannabinoid signalling. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369(1654), 20130599. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0599>
- Patel, D. C., Tewari, B. P., Chaunsali, L., & Sontheimer, H. (2019). Neuron-glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nature reviews. Neuroscience*, 20(5), 282–297. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0126-4>
- Racine R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 32(3), 281–294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
- Rosenberg, E. C., Tsien, R. W., Whalley, B. J., & Devinsky, O. (2015). Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 12(4), 747–768. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0375-5>
- Rosenberg, E. C., Patra, P. H., & Whalley, B. J. (2017). Therapeutic effects of cannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis, and epilepsy-related neuroprotection. *Epilepsy & behavior : E&B*, 70(Pt B), 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.006>
- Ruiz de Martín Esteban, S., Benito-Cuesta, I., Terradillos, I., Martínez-Relimpio, A. M., Arnanz, M. A., Ruiz-Pérez, G., Korn, C., Raposo, C., Sarott, R. C., Westphal, M. V., Elezgarai, I., Carreira, E. M., Hillard,

- C. J., Grether, U., Grandes, P., Grande, M. T., & Romero, J. (2022). Cannabinoid CB₂ Receptors Modulate Microglia Function and Amyloid Dynamics in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 841766. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.841766>
- Sanz, P., & Garcia-Gimeno, M. A. (2020). Reactive Glia Inflammatory Signaling Pathways and Epilepsy. *International journal of molecular sciences*, *21*(11), 4096. <https://doi.org/10.3390/ijms21114096>
- Stella N. (2010). Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia*, *58*(9), 1017–1030. <https://doi.org/10.1002/glia.20983>
- Sugaya, Y., & Kano, M. (2022). Endocannabinoid-Mediated Control of Neural Circuit Excitability and Epileptic Seizures. *Frontiers in neural circuits*, *15*, 781113. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.781113>
- Squire, L., Berg, D., Bloom, F. E., Du Lac, S., Ghosh, A., & Spitzer, N. C. (Eds.). (2012). *Fundamental neuroscience*. Academic press.
- Terradillos, I., Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Serrano, M., Mimenza, A., Lekunberri, L., Anaut-Lusar, I., Reguero, L., Gerrickagoitia, I., Ruiz de Martín Esteban, S., Hillard, C. J., Grande, M. T., Romero, J., Elezgarai, I., & Grandes, P. (2023). Altered glial expression of the cannabinoid 1 receptor in the subiculum of a mouse model of Alzheimer's disease. *Glia*, *71*(4), 866–879. <https://doi.org/10.1002/glia.24312>
- Toro-Pérez, J., Suller-Martí, A., Herrera, M., Botton, J., & Burneo, J. G. (2020). Epilepsia del lóbulo temporal plus: revisión [Temporal plus epilepsy: a review]. *Revista de neurología*, *71*(6), 225–233. <https://doi.org/10.33588/rn.7106.2020339>
- Victor, T. R., & Tsirka, S. E. (2020). Microglial contributions to aberrant neurogenesis and pathophysiology of epilepsy. *Neuroimmunology and neuroinflammation*, *7*, 234–247. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.02>
- Vinti, V., Dell'Isola, G. B., Tascini, G., Mencaroni, E., Cara, G. D., Striano, P., & Verrotti, A. (2021). Temporal Lobe Epilepsy and Psychiatric Comorbidity. *Frontiers in neurology*, *12*, 775781. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.775781>
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, *2*(2), 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>

7. Eskerrak eta oharrak

Lan honek hainbat erakunderen diru laguntza izan du: Eusko Jaurlaritza (IT1230-19); Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), Instituto de Salud Carlos III (ISC-III RD21/0009/0006) eta Europar Batasunaren Europako Eskualde Garapenerako Funtsa (ERDF-EU; RD16/0017/0012); MINECO/FEDER, UE (SAF2015-65034-R); Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107548RB-I00); ESG doktoreak Ikerbasque eta MINECO funtsa (MICIU/AEI/FEDER-EU; PGC2018-093990-A-I00); MS eta LLren Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko ikertzaileen kontratuak (PIF 19/164; PIF 18/315) eta AMren Eusko Jaurlaritzako doktoratu aurreko ikertzaile kontratua.