



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

1. Resumen/abstract	3
2. Introducción	4
2.1. La esclerosis lateral amiotrófica	4
2.1.1. Epidemiología	4
2.1.2. Descripción anatómica-fisiológica	5
2.1.3. Etiología.....	6
2.1.4. Presentación clínica.....	7
2.1.5. Diagnóstico	7
2.1.6. Patogenia.....	8
2.2. Neuroinflamación en la esclerosis lateral amiotrófica	9
2.2.1. Papel de la neuroglia en la neuroinflamación.....	9
2.2.1.1. Microglia	10
2.2.1.2. Astroglia.....	11
2.2.1.3. Oligodendroglia.....	12
2.2.2. Papel de los linfocitos t en la neuroinflamación	13
2.2.3. Papel del sistema del complemento en la neuroinflamación.....	14
3. Justificación y objetivos	16
4. Metodología	16
4.1. Fuentes bibliográficas consultadas	17
4.2. Estrategias y proceso de búsqueda	18
5. Resultados y discusión	21
5.1. Resultados obtenidos.....	21
5.2. Discusión sobre los resultados	23
6. Conclusiones / conclusions	27
7. Valoración personal.....	29
8. Agradecimientos.....	29
9. Referencias bibliográficas	30

1. Resumen/Abstract

Neuroinflamación en la Esclerosis Lateral Amiotrófica

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neuromuscular de carácter fatal que se caracteriza por una degeneración gradual de las motoneuronas (MN) y una progresiva atrofia muscular. Se han propuesto numerosos mecanismos patogénicos convergentes que conducen a la muerte neuronal en la ELA, incluyendo el daño oxidativo, la degeneración mitocondrial, la alteración de la transmisión axonal, la apoptosis, la agregación proteica, la excitotoxicidad, alteraciones del citoesqueleto y la neuroinflamación. La neuroinflamación en la ELA se caracteriza por la activación microglial y astrocítica, la infiltración de linfocitos T y macrófagos y la sobreproducción de citoquinas inflamatorias. Existen múltiples evidencias acerca del papel trascendental de la neuroinflamación en la patogénesis de la enfermedad. Se ha demostrado la pérdida neuronal asociada a la neuroinflamación en tejidos de modelos animales de ELA, en ratones transgénicos y en pacientes de ELA humanos.

Este trabajo pretende recopilar la bibliografía actualizada sobre el papel de la neuroinflamación en la patogenia de la ELA y en qué medida ésta afecta a la progresión de la ELA, tanto a nivel preclínico como a nivel clínico. Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica en diferentes bases de datos especializadas, escogiendo 33 artículos publicados entre 1993 y 2018.

Neuroinflammation in Amyotrophic Lateral Sclerosis

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a disease characterized by a gradual degeneration of motor neurons and progressive muscular atrophy, leading to fatal paralysis. Numerous convergent pathogenic mechanisms have been proposed that lead to neuronal death in ALS, including oxidative damage, mitochondrial degeneration, alteration of axonal transmission, apoptosis, protein aggregation, excitotoxicity, alterations of the cytoskeleton and neuroinflammation. The neuroinflammation in ALS is characterized by microglial and astrocytic activation, infiltration of T lymphocytes and macrophages and the overproduction of inflammatory cytokines. Increasing evidence indicates that neuroinflammation plays an important role in ALS pathogenesis. Neuroinflammation in ALS, has been shown to be associated with neuronal loss in tissues of animal models of ALS, as well as the transgenic mouse, as in human ALS patients.

The present work aims to compile the recent literature on the role of neuroinflammation in the pathogenesis of ALS and to what extent it affects the progression of ALS, both at the preclinical level and at the clinical level. In order to carry it out, a bibliographic review has been made in different specialized databases, choosing 33 articles published between 1993 and 2018 for the review.

2. Introducción

2.1. La Esclerosis Lateral Amiotrófica

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) fue clínicamente descrita por primera vez en 1869 por el neurólogo francés Jean-Martin Charcot. En sus estudios Charcot describió la sintomatología clínica y su progresión en los pacientes la ELA y las correlacionó con las lesiones anatómicas observadas en la autopsia (Shaw, 2005). Esta enfermedad también aparece en la bibliografía como enfermedad de Lou Gehrig, tras ser diagnosticada en el famoso jugador de béisbol en la década de 1930, y como enfermedad de la motoneurona (EMN). Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos de la ELA no se han empezado a estudiar hasta las últimas dos décadas.

La ELA es una enfermedad neuromuscular de carácter fatal que se caracteriza por una degeneración selectiva y gradual de las neuronas motoras superiores e inferiores, que acaba derivando en la muerte celular. Como consecuencia, se produce una atrofia progresiva de la musculatura esquelética y finalmente una insuficiencia respiratoria (Esquerda, 2006). En la actualidad no existen agentes terapéuticos que detengan, retrasen o reviertan la enfermedad, con la excepción del riluzol, que puede disminuir la progresión de la enfermedad en humanos (Wijesekera y Leigh, 2009).

2.1.1. Epidemiología

La ELA afecta principalmente a personas de edad avanzada, entre los 40 y 70 años, comenzando solo un 5% de los casos antes de los 30 años y siendo más frecuente en hombres que en mujeres (Wijesekera y Leigh, 2009). A nivel mundial, se estima que cada año se producen entre 1 y 2,6 casos nuevos de ELA por cada 100.000 habitantes y que la prevalencia es de 6 casos por cada 100.000 habitantes (Talbot *et al.*, 2016). Según la Fundación Española para el Fomento de la Investigación de la Esclerosis Lateral Amiotrófica (FUNDELA), en España se estima que cada año se diagnostican casi unos 900 nuevos casos de ELA y que el número total de casos ronda los 4.000. La incidencia de la ELA en la población española es de 1 por cada 50.000 habitantes y la prevalencia es de 3,5 casos por cada 100.000. Además, en las últimas décadas se ha descrito un aumento en el número de casos diagnosticados al año, hecho que se asocia a las recientes mejoras en el diagnóstico y a una mayor supervivencia de la población.

2.1.2. Descripción anatómica-fisiológica

Los territorios nerviosos afectados por el proceso neurodegenerativo de la ELA son las motoneuronas del sistema motor voluntario, que se alojan en la corteza cerebral, el tronco del encéfalo y en el asta anterior de la médula espinal y sus proyecciones neuromusculares (Rowland y Shneider, 2001) (Figura 1). En condiciones normales, esta zona de la sustancia blanca medular es ocupada por axones motores procedentes de las neuronas piramidales de las áreas motoras de la corteza cerebral, que conectan con las motoneuronas del asta anterior de la médula. A su vez, los axones de las motoneuronas inferiores conectan con los músculos. El conjunto de axones que conforman el cordón lateral medular se integran en la vía corticoespinal o piramidal, que controla los movimientos voluntarios.

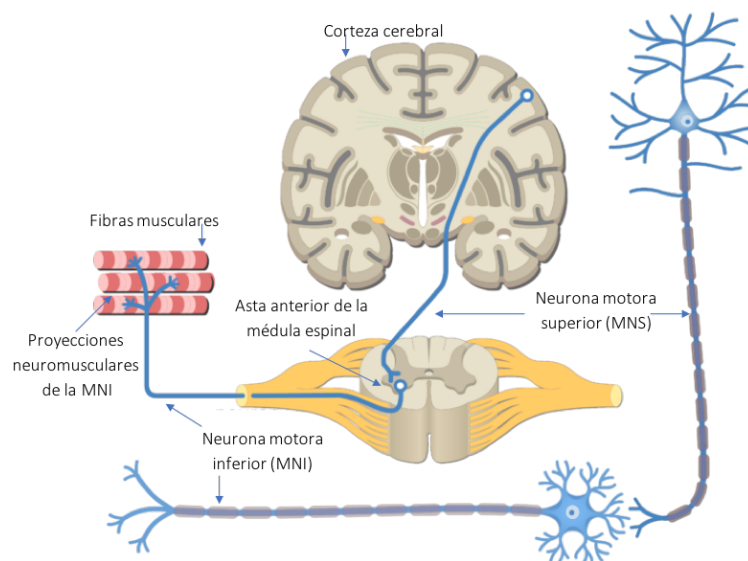


Figura 1. La degeneración selectiva de las MN del tronco del encéfalo y de la médula espinal produce atrofia muscular, debilidad y fasciculaciones. (<https://www.getbodysmart.com/nerve-cells/multipolar-neurons>).

La degeneración de la vía piramidal interrumpe las conexiones entre la MN superior y la MN inferior del asta anterior de la médula espinal. Por consiguiente, la pérdida selectiva de estos axones determina la aparición de la esclerosis lateral como lesión anatomopatológica de la ELA (Esquerda, 2006). La expresión esclerosis lateral hace alusión a la pérdida de fibras nerviosas acompañada de una cicatrización glial o esclerosis en la región lateral de la médula espinal. Por otro lado, el término atrofia se refiere a la disminución del tamaño de los músculos esqueléticos y la pérdida de fuerza como consecuencia de la inactivación muscular crónica debida a la falta de impulsos nerviosos (Rowland y Shneider, 2001). Además, dicha pérdida de conexión entre la motoneurona superior y la inferior conduce a una pérdida de los controles inhibitorios ejercidos por la primera neurona sobre la segunda, dando lugar a una exaltación de los reflejos tendinosos y la espasticidad propias de la enfermedad (Rowland y Shneider, 2001).

2.1.3. Etiología

La mayoría de los casos de ELA, más del 90%, son de origen esporádico (sELA), mientras que aproximadamente el 5 - 10% de los casos evidencian un carácter familiar (fELA) y el 20% de éstos presentan un perfil hereditario autosómico dominante (Saberri *et al.*, 2015). Hasta la fecha se han descrito más de 20 genes implicados en la aparición de la enfermedad (Komine y Yamanaka, 2015). En 1993, Rosen identificó mutaciones en el cromosoma 21, concretamente en el gen que codifica el enzima superóxido-dismutasa tipo 1 (SOD-1) (Rosen *et al.*, 1993). En la actualidad se conocen más de 100 mutaciones distintas en este gen, que son responsables del 15 al 20% de las formas familiares y, por tanto, del 1 al 2% de todas las formas de ELA (Philips y Rothstein, 2016).

El descubrimiento de estos genes vinculados a la aparición de la ELA ha permitido desarrollar modelos animales con primates, roedores, pez cebra, gusano y mosca que reproducen, en algunos aspectos, la enfermedad observada en pacientes con ELA (Philips y Rothstein, 2016). Entre todos los modelos animales desarrollados, el más utilizado para los ensayos preclínicos es el ratón con mutación de la enzima SOD1^{G93A}. Durante los últimos veinte años, el modelo de ratón SOD1, principalmente el modelo SOD1^{G93A}, seguido de los modelos G37R, G85R y G86R, se han utilizado para caracterizar la biología básica de la ELA y estudiar posibles terapias. Los ratones transgénicos SOD1^{G93A} contienen y sobreexpresan el gen SOD1 mutado humano, de forma que desarrollan una enfermedad equiparable a la ELA humana tanto a nivel clínico como histopatológico (Philips y Rothstein, 2016).

La enzima cobre-zinc superóxido dismutasa (SOD1) es una proteína de 17 kD que cataliza la conversión de superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular (O_2) (Esquerda, 2006). La función de esta enzima es proteger al organismo del acúmulo de radicales libres mediante la detoxificación de especies reactivas de oxígeno (ROS), como puedan ser el anión superóxido (O_2^-) o hidroxilo (OH^\cdot). Tanto en los pacientes de ELA familiar como en los ratones transgénicos que desarrollan la enfermedad, la mutación de la SOD1 se expresa en todas las células, aunque sólo se afectan las motoneuronas. La SOD1 mutada tiende a agregarse en el citosol y provocar un efecto tóxico sobre las neuronas y astrocitos (Esquerda, 2006).

Además de la mutación en la SOD1, implicada en el 20% de los casos de fELA y el 5% de los casos sELA, existen otras mutaciones que pueden dar lugar a la enfermedad. Las mutaciones en el gen TARDBP representan el 5 -10% de los casos de fELA, las mutaciones en el gen FUS suponen el 5% y las mutaciones en ANG se corresponden aproximadamente con el 1% de fELA (Kiernan *et al.*, 2011).

2.1.4. Presentación clínica

Aunque el inicio de la enfermedad puede variar entre pacientes, las manifestaciones clínicas de la ELA se deben al compromiso del sistema nervioso motor, con preservación del resto de funciones del sistema nervioso. En la forma clásica o espinal (70% de los casos) el comienzo de los síntomas suele ser focal, iniciándose como debilidad en las extremidades superiores o inferiores con una progresión normalmente asimétrica, que da lugar a un déficit de la destreza manual y/o de la marcha. La segunda forma de presentación más común es la bulbar (25% de los casos), que se caracteriza por la aparición de disartria y disfonía derivadas de la debilidad de los músculos de la lengua y laringe. Otra forma menos común es la respiratoria (5% de los casos) cuyos síntomas y signos se deben a la debilidad de los músculos respiratorios incluido el diafragma (Wijesekera y Leigh, 2009).

En todas las presentaciones se conservan los movimientos oculares hasta el final de la enfermedad, dado que apenas se afectan las motoneuronas que controlan los músculos oculomotores (Esquerda, 2006). Por otro lado, se ha visto que tampoco se daña el núcleo de Onduf, formado por un grupo de motoneuronas situadas en la región caudal o sacra de la médula espinal y que inervan los músculos de los esfínteres que controlan la micción y la defecación (Esquerda, 2006). Por último, aunque las funciones cognitivas no se ven afectadas en la mayoría de los casos, aproximadamente el 15% de los pacientes desarrollan anomalías conductuales y lingüísticas que conducen a un diagnóstico adicional de demencia del lóbulo frontotemporal (Valori *et al.*, 2013).

2.1.5. Diagnóstico

Dado que no existe ningún marcador biológico para el diagnóstico de ELA, sino que su diagnóstico es fundamentalmente clínico, en ocasiones es difícil de diferenciar de otras enfermedades relacionadas con las motoneuronas. De acuerdo con los criterios de El Escorial formulados por la Federación Mundial de Neurólogos en 1994 y modificados en 1998, el diagnóstico definitivo de ELA se basa en el examen clínico y de la electrofisiología y en las pruebas de laboratorio e imagen. Según este consenso el diagnóstico de ELA requiere la presencia de signos clínicos de carácter progresivo de afectación de MNS y MNI y ausencia de signos electrofisiológicos o lesiones observadas en neuroimagen relacionados con otras enfermedades que puedan explicar la afección. Sin embargo, al inicio de la enfermedad es posible que algunos de estos signos estén ausentes. A partir de los criterios de El Escorial se establecen cuatro categorías diagnósticas: ELA definida, ELA probable, ELA posible y sospecha clínica de ELA (Bucheli *et al.*, 2012).

2.1.6. Patogenia

Desde la primera descripción de la enfermedad, se han propuesto numerosos mecanismos patogénicos convergentes que conducen a la muerte neuronal en la ELA (Figura 2), incluyendo el daño oxidativo, la degeneración mitocondrial, la alteración de la transmisión axonal, la apoptosis, la agregación proteica, la excitotoxicidad, alteraciones del citoesqueleto y la neuroinflamación (Wijesekera y Leigh, 2009). Parece, por tanto, que el desarrollo y progresión de la enfermedad se debe a un conjunto de factores y mecanismos patogénicos, en lugar de un único mecanismo. Sin embargo, hoy en día todavía no se ha identificado una etiopatogenia clara de la enfermedad.

Los mecanismos patogénicos responsables de las lesiones de las motoneuronas pueden clasificarse en función de si afectan directamente en las células del sistema nervioso, o bien si afectan a poblaciones celulares no neuronales como, por ejemplo, células del sistema inmune, que contribuyen a la progresión de la enfermedad (Hooten *et al.*, 2015).

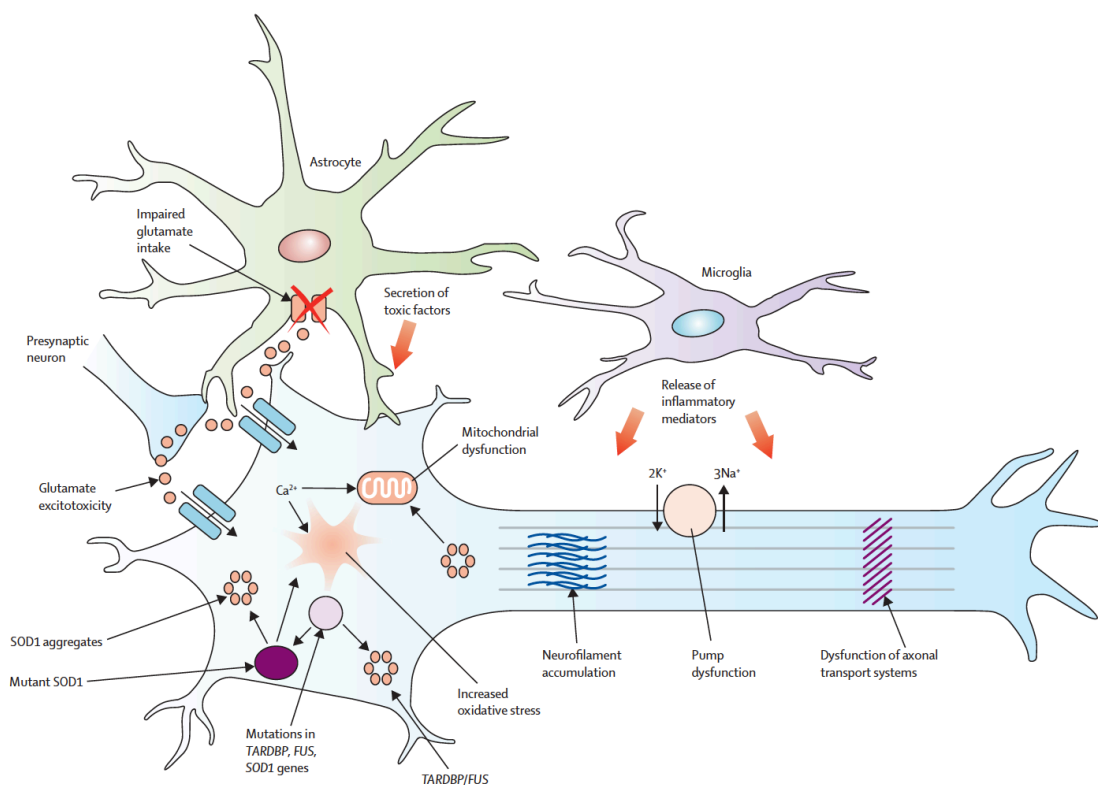


Figura 2. Interacción entre los diferentes mecanismos celulares y moleculares que intervienen en el proceso de neurodegeneración de la ELA (Kiernan *et al.*, 2011).

2.2. Neuroinflamación en la Esclerosis Lateral Amiotrófica

Se entiende por neuroinflamación la activación de la neuroglia, la infiltración de leucocitos y la subsiguiente producción de citoquinas, factores neurotóxicos y factores neuroprotectores. Las áreas afectadas por este proceso se caracterizan por la acumulación de células microgliales y astrogliales hipertróficas y por una moderada infiltración de leucocitos, especialmente CD4⁺ y CD8⁺ (Esquerda, 2006).

Inicialmente se creía que el desarrollo de neuroinflamación en la ELA daba lugar a un estado de neurotoxicidad. Sin embargo, esta idea ha cambiado tras varios estudios gracias a los cuales se ha observado que la transferencia de microglia de animales sanos retrasa la progresión de la ELA en ratones SOD1^{G93A} (Beers *et al.*, 2006), la escisión selectiva del gen mutante SOD1 de los astrocitos ralentiza la progresión de la enfermedad y alarga la esperanza de vida en los ratones (Yamanaka *et al.*, 2008) y la eliminación de la población de linfocitos T en ratones transgénicos empeora el curso de la enfermedad (Chiu *et al.*, 2008). Hoy en día se cree que, tanto en los pacientes de ELA como en los modelos animales, la neuroinflamación tiene inicialmente un papel protector o defensivo, que acaba derivando en un mecanismo neurotóxico que perpetua el proceso lesivo e incrementa el daño neuronal (Hooten *et al.*, 2015).

2.2.1. Papel de la neuroglia en la neuroinflamación

Cuando se produce un daño en el sistema nervioso, la glía reacciona cambiando su estado normal al de glía reactiva (Figura 3). La reactividad glial tiene inicialmente como objetivo reparar los daños a nivel del SNC y normalizar los niveles de nutrientes y neurotransmisores. Sin embargo, esta reacción acaba generando lesiones secundarias que pueden llegar a cronificar la patología (Kálmán, 2004).

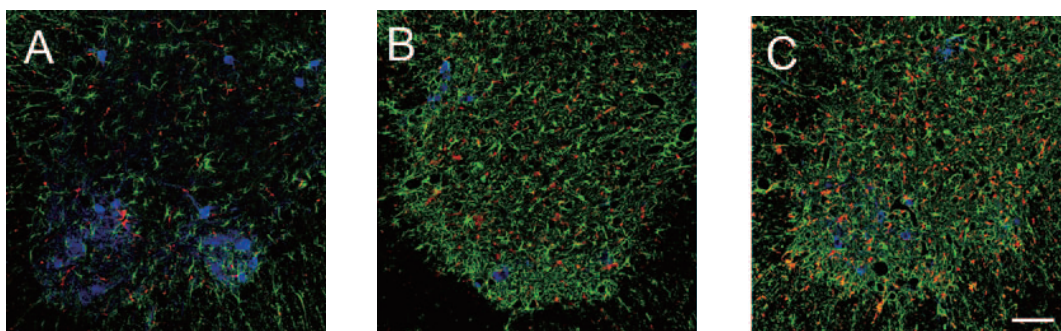


Figura 3. Activación de la microglia y astroglia en secciones de la médula espinal lumbar de ratones SOD1^{G93A} en etapa pre-sintomática (A), etapa sintomática (B) y etapa final (C) de la ELA. Las células se tiñeron con anticuerpos para ChAT (neurona motora colinérgica, azul), GFAP (astrocitos, verde), e Iba-1 (microglia, rojo). (Komine y Yamanaka, 2015).

2.2.1.1. Microglia

Los microgliocitos son pequeñas células alargadas, que se encuentran en la sustancia gris (microglia radial) y en la sustancia blanca (microglia longitudinal) del sistema nervioso, ubicándose cerca de las neuronas y a lo largo de los vasos sanguíneos. En condiciones normales son células poco numerosas, pero si se produce una lesión son capaces de proliferar. Las células de la microglia forman parte del sistema mononuclear fagocitario e intervienen en la respuesta inmune innata a nivel del SNC. Cuando se produce una lesión en el SNC los microgliocitos proliferan, pierden sus prolongaciones y adquieren capacidad fagocitaria (Lasiene y Yamanaka, 2011).

Se ha visto que en los pacientes de ELA la activación de la microglia se da específicamente en las motoneuronas dañadas de la corteza cerebral, a lo largo del tracto corticoespinal y del asta ventral de la médula espinal (Hooten *et al.*, 2015). Además, en los estudios preclínicos realizados con ratones transgénicos SOD1^{G93A}, se ha observado que la activación microglial se da incluso antes de la muerte de la neurona motora (Alexianu, Kozovska y Apple, 2001).

En función del estímulo y el entorno de las citoquinas circundantes, la microglía puede activarse por la vía clásica dando lugar a un fenotipo proinflamatorio o M1, o bien por la vía alternativa formando el fenotipo antiinflamatorio o M2. En los primeros estadios de la ELA predomina la microglia en estado M2, que produce altos niveles de sustancias antiinflamatorias y factores neurotróficos incluyendo IL-4, IL-10 y factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), además de otras señales de neuroprotección como CD200 y fractalquina. Cuando la enfermedad progresa, se induce la transformación de la microglia en estado M1 (Figura 5). Este fenotipo tiene un efecto citotóxico debido a la secreción de especies de oxígeno reactivo (ROS) y citoquinas proinflamatorias como interleucinas (IL-1 e IL-6) y factores de necrosis tumoral (TNF- α). Además, los M1 promueven una respuesta neurotóxica por parte de los linfocitos T (Liu y Wang, 2017).

2.2.1.2. Astroglia

Las funciones de los astrocitos son muchas y complejas, incluyendo la regulación de la concentración extracelular de neurotransmisores como el glutamato, funciones metabólicas y hemostáticas, proporción de soporte estructural y nutricional a las neuronas y contribución en la respuesta inmune. Dada la diversidad de funciones de la astroglia, las alteraciones en la fisiología de esta población contribuyen al daño neuronal mediante mecanismos inmunológicos y no inmunológicos (Hooten *et al.*, 2015).

Se ha observado, tanto en pacientes de ELA familiar y esporádica como en ratones SOD1^{G93A}, que hay una disminución de la expresión del transportador del glutamato EAAT2/GLT-1 en los astrocitos, lo que hace que aumenten las concentraciones extracelulares de glutamato. El exceso de glutamato en la hendidura sináptica produce una activación neuronal excesiva y una mayor afluencia de calcio que resulta tóxico para las neuronas (Howland *et al.*, 2011). Un segundo efecto que puede atribuirse al funcionamiento anormal de los astrocitos en la ELA es la liberación insuficiente de factores neurotróficos, los cuales son claves para la supervivencia de las neuronas motoras (Ekestern, 2004). Además, los astrocitos pueden liberar factores neurotóxicos, como el factor de crecimiento nervioso (NGF). Durante el periodo embrionario el NFG interviene en la supervivencia y diferenciación neuronal, sin embargo, se ha visto que el NGF secretado por astrocitos reactivos induce la muerte de las neuronas motoras que expresan el receptor de neurotrofinas p75 (p75^{NTR}) (Pehar *et al.*, 2004).

Cabe destacar dos tipos de estudios preclínicos realizados para clarificar el papel de la astroglía en la ELA. Por un lado, la obtención de modelos animales mediante la ablación de la expresión de la mutación de SOD1^{G93A} en los astrocitos ha demostrado que, la reducción de la proteína mutada en los astrocitos, retrasa la aparición de los síntomas de la ELA o reduce su progresión en los ratones (Wang *et al.*, 2011). Por otro lado, para determinar el potencial tóxico de los astrocitos en la ELA, se han realizado estudios con ratones transgénicos SOD1^{G93A} a los que se les ha trasplantado precursores de astrocitos sin la mutación (Lepore *et al.*, 2008) y estudios con ratones control a los que se les ha inoculado astrocitos que expresan la proteína mutada (Papadeas *et al.*, 2011). En el primer grupo de animales se observa un retraso en la progresión de la enfermedad y un aumento de la esperanza de vida, mientras que en el segundo grupo de animales se induce la enfermedad.

2.2.1.3. Oligodendroglia

Los oligodendrocitos son células gliales cuyas funciones son aislar a los axones mediante la formación de una vaina de mielina y proporcionar soporte metabólico a las neuronas (Figura 4A). El equipo de Kang observó la presencia de inclusiones patológicas, anomalías en la mielina, desmielinización y degeneración de los oligodendrocitos en la sustancia gris de la médula espinal ventral de pacientes de ELA (Kang *et al.*, 2013). Además, se ha detectado un aumento de la inmunorreactividad de los precursores de oligodendrocitos NG2⁺ como respuesta frente a la lesión del sistema nervioso (Figura 4B) (Nonneman *et al.*, 2014). No obstante, los nuevos oligodendrocitos formados en respuesta a la degeneración celular son disfuncionales, de modo que no son capaces de evitar la degeneración axonal y la progresión de la enfermedad.

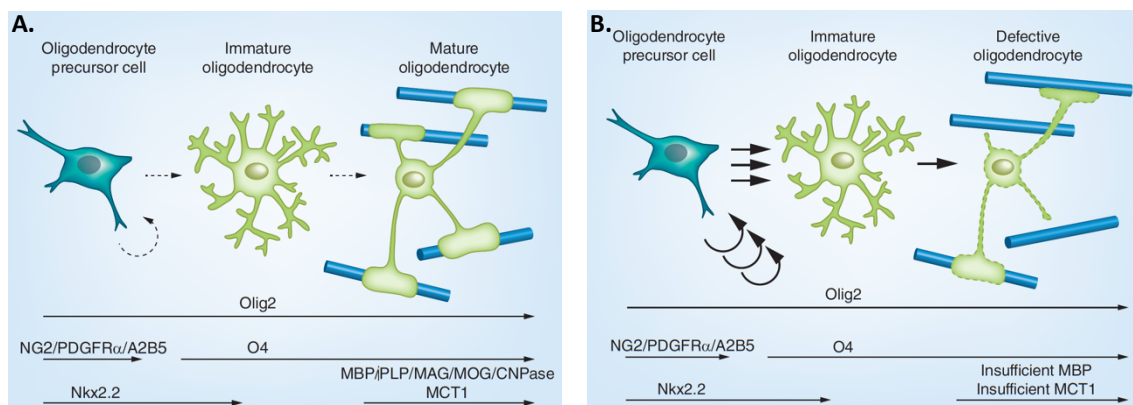


Figura 4. A) Durante la vida adulta se mantiene un grupo de células precursoras de oligodendrocitos NG2⁺ mitóticamente activas, pero su tasa de proliferación y diferenciación es limitada. Los oligodendrocitos maduros mielinizan varios axones. B) En respuesta al daño neuronal las células precursoras aumentan su tasa de proliferación y diferenciación. Sin embargo, el funcionamiento de los oligodendrocitos recién formados es anormal (Nonneman, *et al.*, 2014).

2.2.2. Papel de los linfocitos T en la neuroinflamación

Durante la progresión de la enfermedad las poblaciones de linfocitos T se infiltran en el SNC y contribuyen en el proceso de neuroinflamación (Figura 5). En las muestras de tejidos de SNC de pacientes humanos y de animales transgénicos se observan linfocitos T helper (Th) o $CD4^+$ en asociación con la activación microglial, así como linfocitos T citotóxicos (Tc) o $CD8^+$ en etapas posteriores de la enfermedad (Hooten *et al.*, 2015).

A su vez, se han descrito varios subtipos de linfocitos T $CD4^+$, principalmente Th1, Th2, Th17 y linfocitos T reguladores (Tregs). Cada una de estas subpoblaciones tiene funciones especializadas en el control de la respuesta inmune, siendo algunas de ellas neuroprotectoras como los linfocitos Th2 y Tregs; y otras proinflamatorias y neurotóxicas como Th1 y Th17 (Chiu *et al.*, 2015).

Los linfocitos Th2 y Tregs son capaces de liberar grandes cantidades de IL-4, que actúa como factor antiinflamatorio e induce la transformación de la microglia en su fenotipo neuroprotector (M2). Además, estas subpoblaciones de linfocitos favorecen la producción de factores neurotróficos por parte de los astrocitos (Hooten *et al.*, 2015). Cuando la enfermedad progresa predominan las subpoblaciones proinflamatorias Th1 y Th17, que contribuyen a la neurotoxicidad y la producción de citoquinas como IL-1, IL-6, TNF- α y IFN- γ (Hooten *et al.*, 2015).

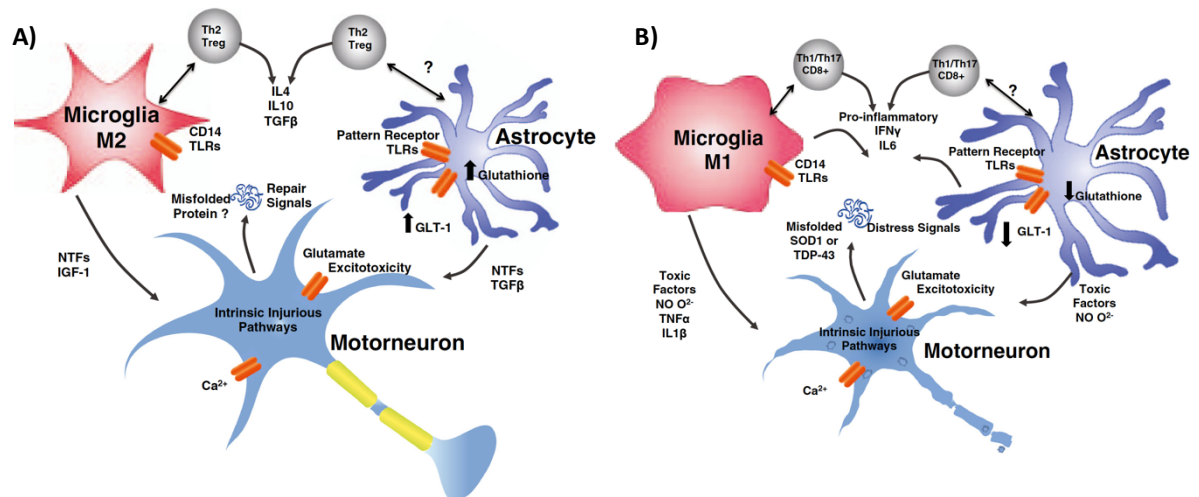


Figura 5. A) Fase protectora de la neuroinflamación mediada por linfocitos T helper 2 (Th2), linfocitos T reguladores (Tregs), M2 y astrocitos de soporte que secretan factores neurotróficos (Ntfs) y disminuyen el estrés neuronal. B) Fase neurotóxica de la neuroinflamación con participación de linfocitos helper 1 (Th1) y 17 (Th17), M1 y astrocitos con alteraciones funcionales que favorecen el daño neuronal (Hooten *et al.*, 2015).

2.2.3. Papel del sistema del complemento en la neuroinflamación

El sistema del complemento es una cascada enzimática que consta de más de 30 proteínas plasmáticas y glicoproteínas, y receptores solubles o unidos a la membrana (Figura 6). Las consecuencias de la activación del sistema del complemento son el reclutamiento de células inflamatorias mononucleares y macrófagos, la opsonización y fagocitosis de patógenos y la formación del complejo de ataque a membrana (MAC) (Kjældgaard *et al.*, 2018).

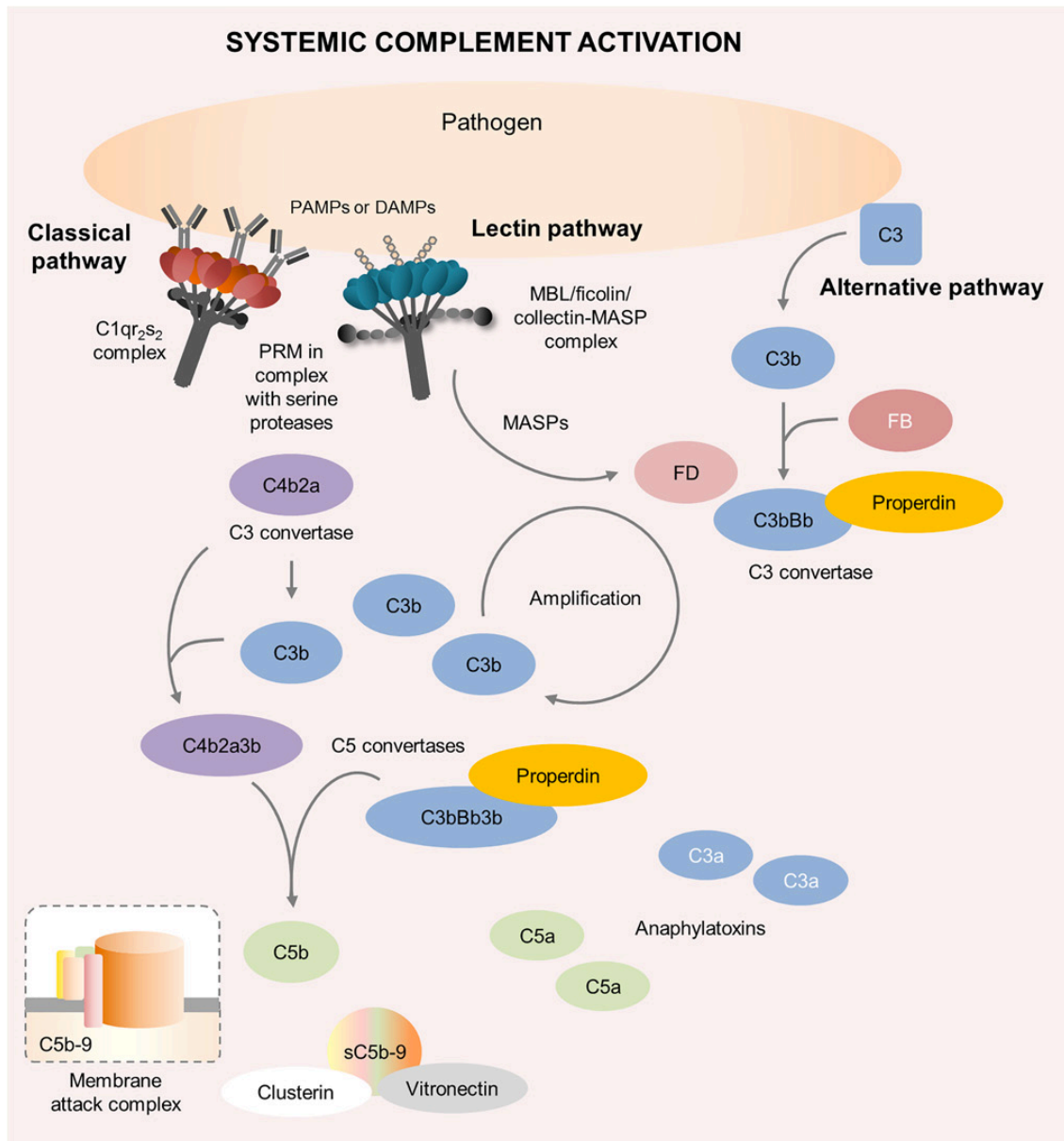


Figura 6. Diagrama de activación del sistema complemento. (Kjældgaard *et al.*, 2018)

Se ha observado que algunos componentes del sistema complemento como, C1q, C5a y C5b-9, están elevados en el plasma, el líquido cefalorraquídeo y la médula espinal de los pacientes con ELA y de algunos modelos animales de ELA (Heurich *et al.*, 2011). Sin embargo, actualmente el papel de la vía del complemento en la patogénesis de la ELA sigue siendo controvertido.

Por un lado, se identificaron depósitos del factor C1q en placas terminales motoras del músculo intercostal de pacientes con ELA (Bahia *et al.*, 2016), un aumento del factor C3 en las neuronas y astrocitos del asta ventral de la médula espinal y un aumento del depósito de productos de la activación de C3 en las motoneuronas del asta ventral (Figura 7) de los ratones SOD1^{G93A} (Heurich *et al.*, 2011). Todo ello sugería que la activación del complemento podía preceder a la denervación de la placa terminal en la ELA humana. No obstante, el equipo de Lobsiger demostró que la delección genética de C1q y C3 de ratones transgénicos no afectaba al inicio ni a la progresión de la enfermedad, sugiriendo que la inducción de C1q y la activación de la vía del complemento clásica o alternativa no contribuyen significativamente a la patogénesis de la ELA en ratones SOD1^{G93A} (Lobsiger *et al.*, 2013).

Por otro lado, se ha demostrado la activación de C5b-C9 o complejo de ataque de membrana (MAC) y la producción de C5a en el tejido muscular esquelético (Figura 7) de ratones SOD1^{G93A} (Woodruff *et al.*, 2008). Dicha activación local y el aumento de la expresión de C5a-C5aR1 contribuyen al reclutamiento de macrófagos, pudiendo acelerar de esta forma la denervación muscular y la muerte de motoneuronas en ratones SOD1^{G93A}. Además, se ha demostrado que la inhibición selectiva de la señalización C5a-C5aR1 reduce los síntomas motores y alarga la supervivencia de los ratones SOD1^{G93A} (Liu y Wang, 2017).

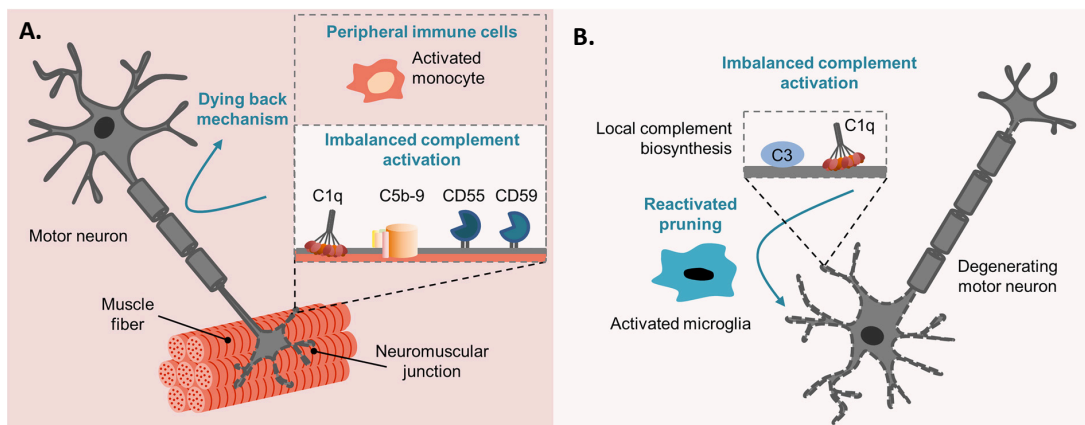


Figura 7. A) Activación del sistema complemento a nivel de las placas motoras del SN periférico, con depósitos de factores C1q y MAC. B) Desequilibrios en la activación del complemento a nivel del SNC, con presencia de factores C1q y C3. (Kjældgaard *et al.*, 2018).

3. Justificación y objetivos

El creciente número de casos diagnosticados de Esclerosis Lateral Amiotrófica y el carácter fatal de la enfermedad, justifican la importancia y necesidad de invertir en investigación acerca de la ELA. La comprensión de los mecanismos patogénicos de la ELA, entre ellos la neuroinflamación, puede ayudar al desarrollo de nuevas terapias paliativas y curativas. Una de las claves en este campo de investigación es el uso de modelos animales transgénicos, que permiten estudiar de forma preclínica los diferentes mecanismos celulares que se dan a lo largo de la progresión de la enfermedad y, de esta forma, comprender los diferentes mecanismos patogénicos que tienen lugar en los pacientes humanos de ELA.

El objetivo de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica sistematizada para recopilar y sintetizar la máxima evidencia científica posible relacionada con el papel de la neuroinflamación en el desarrollo de la Esclerosis Lateral Amiotrófica, tanto a nivel preclínico en modelos animales como a nivel clínico en pacientes de ELA.

4. Metodología

Para la realización de este Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica sistematizada de artículos científicos utilizando diferentes bases de datos reconocidas y estrategias de búsqueda preestablecidas. Las bases de datos utilizadas han sido Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), ScienceDirect, EMBASE, Google Academic y ZAGUAN. La estrategia de búsqueda tiene como fin identificar, seleccionar y sintetizar todas las evidencias científicas de calidad disponibles y relevantes para el tema de interés. De esta manera, se han recopilado 33 trabajos científicos, publicados en castellano y/o en inglés durante los últimos 25 años, sobre el proceso de neuroinflamación en la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

Con el objetivo de precisar la búsqueda, se han utilizado palabras clave unidas por conectores booleanos como “AND”, “OR” y “NOT”. Utilizando el operado “AND” el buscador selecciona los artículos que contenga ambos términos, cuando se utiliza el operador “OR” el buscador selecciona todos los artículos que incluyan alguna de las palabras buscadas, por último, utilizando el operado “NOT” el buscado excluye aquellos trabajos que contengan el segundo término.

Para identificar los artículos relevantes se ha realizado una primera búsqueda por título, seguido de una segunda selección según el resumen de cada artículo. Una vez excluidos los artículos irrelevantes y seleccionados los estudios de interés, se ha realizado una comparación y discusión de los resultados obtenidos con el objetivo de definir cuales son los diferentes papeles y efectos de la neuroinflamación en modelos animales de ELA y en pacientes de ELA humanos.

4.1. Fuentes bibliográficas consultadas

Las bases de datos consultadas han sido: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), ScienceDirect, Google Academic y ZAGUAN.

- MEDLINE es una base de datos de literatura biomédica internacional producida por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos. La base de datos contiene más de 25 millones de referencias bibliográficas y resúmenes de más de 5.000 revistas de ciencias de la salud y ciencias biomédicas publicadas desde 1946 hasta la actualidad. La base de datos MEDLINE utiliza el tesauro MeSH, que se actualiza una vez al año.
- ScienceDirect es una base de datos de literatura científica y médica del editorial Elsevier. Esta base de datos alberga más de 250.000 artículos de 3.500 revistas académicas y 34.000 libros electrónicos. Las revistas se agrupan en cuatro secciones principales: Ciencias Físicas e Ingeniería, Ciencias de la Vida, Ciencias de la Salud, y Ciencias Sociales y Humanidades. Los resúmenes de los artículos están disponibles de forma gratuita, pero el acceso al texto completo suele requerir alguna forma de pago o suscripción a la base de datos.
- Google Académico (Google Scholar) es un buscador de Google enfocado y especializado en la búsqueda de contenido y literatura científico-académica. El sitio indexa editoriales, bibliotecas, repositorios y bases de datos bibliográfica. Entre los resultados de cada búsqueda se pueden encontrar citas, enlaces a libros, artículos de revistas científicas, comunicaciones y ponencias en congresos, informes científico-técnicos, tesis, tesinas y archivos depositados en repositorios. Una de las ventajas de este buscador es que muestra todas las posibles versiones de un documento que figuren en sus índices y los agrupa bajo un mismo encabezamiento de título. Sin embargo,

presenta algunas desventajas como la falta de control en el proceso de selección de las revistas científicas indexadas y la escasez de filtros de búsqueda avanzada.

- ZAGUAN es el repositorio de documentos digitales de la Universidad de Zaragoza abierto a todos los miembros de la comunidad universitaria. Esta herramienta recopila, gestiona, difunde y preserva la producción científica, docente e institucional de la comunidad universitaria. En estos momentos el repositorio recoge una gran diversidad de documentos, como tesis, trabajos académicos (TFG-TFM-PFC) en acceso abierto, documentos de trabajo, algunas ponencias y comunicaciones, revistas y documentos institucionales.

4.2. Estrategias y proceso de búsqueda

La base de datos MEDLINE, mediante la búsqueda con el motor PubMed, permite introducir un gran número de términos de búsqueda, relacionarlos entre sí con los conectores booleanos e indicando el campo en el que aparece la palabra en cuestión (título [ti], resumen [ab], título y abstract [tiab]). En el proceso de búsqueda se han utilizado algunos términos MeSH (Medical Subject Headings) como descriptores que definen de manera exacta el tema que analiza. El uso del tesaurus MeSH permite aumentar la eficacia de las estrategias, obteniendo resultados más precisos y reduciendo el número de trabajos irrelevantes. La búsqueda de términos MeSH puede realizarse seleccionando la base de datos MeSH en el buscador del National Center for Biotechnology Information (NCBI)

Una vez definidos los términos y descriptores claves de búsqueda se realiza un mapa estratégico de búsqueda formado por los términos claves y las combinaciones o relaciones lógicas entre ellos (Tabla 1). Además, para acotar la búsqueda es posible emplear diferentes filtros según la fecha de publicación, el idioma del texto, la tipología documental (artículo de revista, revisión, ensayo clínico) o la disponibilidad de texto completo.

Tabla 1. Estrategias de búsqueda empleadas en MEDLINE. 1) En primer lugar se realizó una búsqueda de revisiones bibliográficas sobre la ELA a fin de adquirir una idea general sobre la enfermedad y sus características. 2) La segunda estrategia de búsqueda tenía como objetivo centrarse en el concepto de neuroinflamación dentro de la ELA. 3,4 y 5). El propósito de las últimas estrategias de búsquedas era el de acotar y restringir aún más la búsqueda con el objetivo de recopilar artículos en los que se desarrollara con detalle el papel de cada uno de los componentes de la neuroinflamación en la ELA.

1	("amyotrophic lateral sclerosis"[MeSH Terms] OR ("amyotrophic"[All Fields] AND "lateral"[All Fields] AND "sclerosis"[All Fields]) OR "amyotrophic lateral sclerosis"[All Fields]) AND (Review[ptyp] AND ("1993/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT]))	4.493 resultados
2	("amyotrophic lateral sclerosis"[MeSH Terms] OR ("amyotrophic"[All Fields] AND "lateral"[All Fields] AND "sclerosis"[All Fields]) OR "amyotrophic lateral sclerosis"[All Fields]) AND neuroinflammation [All Fields] AND ("1993/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT])	431 resultados
3	("amyotrophic lateral sclerosis"[MeSH Terms] OR ("amyotrophic"[All Fields] AND "lateral"[All Fields] AND "sclerosis"[All Fields]) OR "amyotrophic lateral sclerosis"[All Fields]) AND ("neuroglia"[MeSH Terms] OR "neuroglia"[All Fields]) AND ("1993/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT])	1.028 resultados
4	("amyotrophic lateral sclerosis"[MeSH Terms] OR ("amyotrophic"[All Fields] AND "lateral"[All Fields] AND "sclerosis"[All Fields]) OR "amyotrophic lateral sclerosis"[All Fields]) AND ("t-lymphocytes"[MeSH Terms] OR "t-lymphocytes"[All Fields] OR "t lymphocytes"[All Fields]) AND ("1993/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT])	108 resultados
5	("amyotrophic lateral sclerosis"[MeSH Terms] OR ("amyotrophic"[All Fields] AND "lateral"[All Fields] AND "sclerosis"[All Fields]) OR "amyotrophic lateral sclerosis"[All Fields]) AND ("complement system proteins"[MeSH Terms] OR ("complement"[All Fields] AND "system"[All Fields] AND "proteins"[All Fields]) OR "complement system proteins"[All Fields]) AND ("1993/01/01"[PDAT] : "2018/12/31"[PDAT])	39 resultados

Para la búsqueda de información con ScienceDirect puede utilizarse el menú de búsqueda rápida cuyos campos permiten especificar el título del libro o revista, el nombre del autor y/o las palabras claves. Además, existe la opción de búsqueda avanzada que permite seleccionar el tipo de recurso que se desea encontrar (artículo, revista, libro, imágenes, etc.) y emplear operadores booleanos. Utilizando el menú de búsqueda avanzada y la estrategia de búsqueda (“Amyotrophic lateral sclerosis” AND “neuroinflammation”) se han obtenido 97 resultados desde 2002 hasta 2018, de los cuales 42 son artículos de revisión bibliográfica y 55 son artículos de investigación. En cada una de las entradas de los resultados se indica si el texto completo es de libre acceso o bien si solo es posible visualizar el resumen.

Para la búsqueda con Google Académico no existe tesoro y por tanto un mismo concepto puede estar vinculado a distintos términos. En el proceso de búsqueda con Google Académico se ha empleado la herramienta de búsqueda avanzada a fin de acotar los resultados obtenidos. Mediante esta herramienta se han limitado los términos de búsqueda (“Amyotrophic Lateral Sclerosis neuroinflammation, OR glia, OR lymphocyte, OR microglia, OR astroglia, OR oligodendroglia, OR complement”) y las fechas de publicación de los artículos. Sin embargo, uno de los inconvenientes de la base de datos de Google es que no permite filtrar los resultados según el tipo de registro, de forma que se obtiene un número excesivo de archivos y muchos de ellos no son artículos científicos.

Utilizando el repositorio de la Universidad de Zaragoza, Zagan, y empleando como estrategia de búsqueda los términos “Esclerosis Lateral Amiotrófica” en el menú de búsqueda rápida se han obtenido un total de 14 registros. De los 14 archivos encontrados, 11 son trabajos académicos y 3 son tesis.

5. Resultados y discusión

5.1. Resultados obtenidos

Los resultados obtenidos a partir de las diferentes estrategias de búsqueda en cada una de las bases de datos utilizadas han sido muy variados (Figura 8). En la base de datos MEDLINE se han obtenido el mayor número de artículos académicos sobre la ELA, hasta un total de 4.493. No obstante, tal y como se ha explicado en el apartado anterior se han utilizado varias estrategias de búsqueda a fin de recopilar trabajos más específicos. En segundo lugar, la base de datos con más resultados ha sido Google Académico, sin embargo, muchos de estos resultados no cumplían con los criterios de búsqueda dado que no eran fuentes adecuadas o bien la información no era de interés para el tema de estudio. Por otro lado, la estrategia de búsqueda empleada para la base de datos ScienceDirect permitió obtener un total de 91 resultados, la mayoría de ellos adecuados pero repetidos después de la búsqueda con MEDLINE. Por último, mediante ZAGUAN se encontraron un total de 14 archivos encontrados, de los cuales 11 eran trabajos académicos y 3 tesis. Con todo ello, a partir de las búsquedas iniciales se contabilizan un total de 7.034 resultados.

Tras descartar todos aquellos resultados que no cumplían con los criterios de búsqueda, por ejemplo, aquellos que no se correspondían con fuentes científicas de información o bien aquellos artículos que trataban de forma general las enfermedades neurodegenerativas, se obtuvo un total de 228 resultados.

Sin embargo, la mayoría de los artículos aparecían por duplicado en varias de las bases de datos que se emplearon para la búsqueda de información. Teniendo en cuenta dichos artículos duplicados, el total de resultados de búsqueda es 116 artículos. Tras eliminar 47 artículos no relevantes por título y/o resumen se seleccionaron un total de 69 artículos para revisión. De entre todos los artículos revisados, 33 de ellos han sido incluidos en este Trabajo de Fin de Grado acerca de la neuroinflamación en la Esclerosis Lateral Amiotrófica.



Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de búsqueda.

5.2. Discusión sobre los resultados

Los estudios académicos revisados para la redacción de este trabajo se han clasificado en función de su contenido, de más general a más específico (Tabla 2). Gracias a esta clasificación, inicialmente se han revisado los artículos relacionados con los aspectos más generales de la Esclerosis Lateral Amiotrófica. Una vez adquirida una idea general de la enfermedad, se han trabajado aquellos artículos que tratan sobre la neuroinflamación como mecanismo implicado en la progresión de la ELA para finalmente acabar analizando trabajos más específicos que desarrollan el papel de cada uno de los componentes de la neuroinflamación en el inicio y progresión de la enfermedad. Esta clasificación jerárquica de la información se ha reflejado en cada uno de los subapartados de la introducción a fin de facilitar una lectura ordenada. En la Tabla 2 se clasifican cada uno de los artículos incluidos en esta revisión bibliográfica y se resume la información más relevante que ha aportada cada uno de ellos.

Una de las principales dificultades a la hora de evaluar los resultados ha sido la complejidad y abundancia de información e hipótesis sobre la ELA. Además, otra de las limitaciones que hay que tener en cuenta a la hora de interpretar la información es que la mayoría de estudios preclínicos se realizan con ratones transgénicos que imitan la variante de ELA familiar producida por la mutación de la enzima SOD1, lo cual sólo un pequeño porcentaje del total de casos de ELA. Por tanto, la extrapolación de los resultados obtenidos de estudios preclínicos debe hacerse con precaución dadas las diferencias entre las variantes de ELA y las diferencias propias entre los modelos animales y los pacientes humanos.

Por otro lado, el estudio del papel de la neuroinflamación como un mecanismo más implicado en el inicio y progresión de la enfermedad es muy reciente por lo que hay pocos artículos publicados con resultados concluyentes. Además, dentro del propio proceso de neuroinflamación algunos componentes como la microglia y la astrogliosis han sido más estudiados que otros como la oligodendroglia o el sistema del complemento (Tabla 3). Por tanto, faltan aún muchos estudios para determinar cómo actúa exactamente la neuroinflamación, qué repercusión tiene en las distintas etapas de la enfermedad, cómo interactúa con el resto de mecanismos patogénicos y qué implicaciones terapéuticas puede tener.

Tabla 2. Tabla comparativa de los estudios incluidos en la revisión bibliográfica.

Contenido del artículo	Autores	Tipo de estudio	Resultados relevantes
Generalidades de la Esclerosis Lateral Amiotrófica	Bucheli <i>et al.</i>	Revisión	El diagnóstico de ELA se basa en los criterios de El Escorial modificados.
	Esquerda	Revisión	Descripción general de la ELA, formas de presentación, territorios afectados, efecto de la mutación de la enzima SOD1.
	Kiernan <i>et al.</i>	Revisión	Existencia de otras mutaciones causantes de ELA además de la mutación de SOD1.
	Philips y Rothstein	Revisión	Desarrollo de modelos animales de ELA a partir de la mutación de la enzima SOD1.
	Rosen <i>et al.</i>	Primario	Primera identificación de la mutación de la enzima SOD1 como causa de ELA.
	Rowland y Shneider	Revisión	Descripción anatómica-fisiológica de los territorios nerviosos afectados y descripción de las lesiones anatomopatológicas.
	Saberi <i>et al.</i>	Primario	Etiología y porcentajes de presentación de la ELA familiar y la ELA esporádica.
	Shaw	Revisión	Historia y descripción general de la ELA
	Talbott <i>et al.</i>	Revisión	Epidemiología a nivel mundial de la ELA.
	Wijesekera y Leigh	Revisión	Descripción general de la ELA, sus diferentes presentaciones clínicas, mecanismos patogénicos y los tratamientos actuales que pueden retrasar su progresión, como el riluzol.
Neuroinflamación	Liu y Wang	Revisión	Acción y efectos de la microglía en estado M1 y M2 a lo largo del curso de la enfermedad.
	Komine y Yamanaka	Revisión	Imágenes de la activación microglial y astrogliar en la médula espinal de ratones SOD1 ^{G93A} a lo largo del curso de la enfermedad.
	Hooten <i>et al.</i>	Revisión	Clasificación de los mecanismos patogénicos. Existencia de un efecto neuroprotector y otro neurotóxico de la neuroinflamación. Presencia de activación microglial en las MN dañadas. Las diferentes subpoblaciones de linfocitos T tiene distintos efectos.
Neuroglia	Lasiene y Yamanaka	Revisión	Ante una lesión del SNC los microglíocitos proliferan, cambian su morfología y adquieren capacidad fagocitaria.
	Kálmán	Revisión	Ante una lesión del SNC se instaura un estado de glía reactiva que inicialmente compensa los daños, pero a la larga produce lesiones secundarias.

	Valori <i>et al.</i>	Revisión	Papel de la neuroglia en la neuroinflamación.
	Beers <i>et al.</i>	Primario	La transferencia de microglia sana a animales enfermos retrasa la progresión de la ELA
	Lepore <i>et al.</i>	Primario	El trasplante de precursores de astrocitos sanos a animales enfermos retrasa la progresión de la enfermedad.
	Papades <i>et al.</i>	Primario	El trasplante de astrocitos con la mutación de SOD1 a animales sanos induce la ELA.
	Pehar <i>et al.</i>	Primario	Liberación de factores neurotóxicos por parte de los astrocitos.
	Wang <i>et al.</i>	Primario	En ratones SOD1 ^{G93A} con ablación de la mutación en los astrocitos se retrasa la aparición de los síntomas o se reduce la progresión.
	Yamanaka <i>et al.</i>	Primario	La eliminación del gen mutante SOD1 de los astrocitos ralentiza la progresión y alarga la vida de los animales transgénicos que manifiestan ELA.
	Howland <i>et al.</i>	Primario	Función anormal de los astrocitos por disminución de la expresión de EAAT2 en los astrocitos de ratones SOD1 ^{G93A} y pacientes de ELA.
	Ekestren	Revisión	Función anormal de los astrocitos por liberación insuficiente de factores neurotróficos.
	Nonneman <i>et al.</i>	Revisión	Los oligodendrocitos formados como respuesta a la lesión del SN son afuncionales.
	Kang <i>et al.</i>	Primario	Detección de anomalías en los oligodendrocitos de pacientes de ELA y un aumento de la reactividad de los precursores NG2+ como respuesta a la lesión del SN
Linfocitos	Alexinau <i>et al.</i>	Primario	La activación microglial en ratones SOD1 ^{G93A} se produce previa a la muerte de la MN.
	Chiu <i>et al.</i>	Primario	La eliminación de los linfocitos T en los modelos animales de ELA empeora el curso de la enfermedad. Las subpoblaciones de linfocitos T pueden tener funciones neuroprotectoras o neurotóxicas.
Sistema del complemento	Bahia <i>et al.</i>	Primario	Depósitos de C1q en placas terminales motoras de pacientes de ELA.
	Heurich <i>et al.</i>	Primario	Demostración del aumento C1q, C5a y C5b-9 en el plasma, LCR y médula espinal de pacientes de ELA y en modelos animales. Aumento de C3 en neuronas y astrocitos de ratones SOD1 ^{G93A} .
	Kjældgaard <i>et al.</i>	Revisión	Descripción de la activación del sistema del complemento en la ELA.
	Lobsiger <i>et al.</i>	Primario	La activación clásica o alternativa no contribuyen a la patogénesis de la ELA.
	Woodruff <i>et al.</i>	Primario	El factor C5a contribuye a la patogenia en ratones SOD1 ^{G93A} .

A pesar de las limitaciones a la hora de encontrar e interpretar la bibliografía actual sobre el efecto de la neuroinflamación en la ELA a nivel preclínico y, especialmente, a nivel clínico; con este trabajo se ha conseguido recoger la máxima evidencia científica y sintetizar los conocimientos actuales en este campo (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen del papel de los diferentes componentes de la neuroinflamación en el desarrollo de la Esclerosis Lateral Amiotrófica a nivel preclínico y a nivel clínico.

Componentes de la neuroinflamación	Resultados en ensayos pre-clínicos	Resultados en ensayos clínicos
Glia (Microglia)	Activación microglial previa a la muerte de la MN	Activación microglial en MN dañadas
Glia (Astroglia)	Disminución de la expresión de EAAT2/GLT-1 en los astrocitos. Reducción de factores neurotróficos y secreción de factores neurotóxicos.	Disminución de la expresión de EAAT2/GLT-1 en los astrocitos. Reducción de factores neurotróficos y secreción de factores neurotóxicos
Glia (Oligodendroglia)		Inclusiones, anomalías en la mielina, desmielinización y degeneración de oligodendrocitos del asta ventral. Aumento de la inmunoreactividad de NG2+.
Linfocitos T	Al inicio de la enfermedad hay linfocitos Th2 y Tregs en asociación con la activación microglial. En estadios avanzados predominan linfocitos Tc, Th1 y T17.	Al inicio de la enfermedad hay linfocitos Th2 y Tregs en asociación con la activación microglial. En estadios avanzados predominan linfocitos Tc, Th1 y T17.
Sistema complemento	Aumento de la concentración de C1q, C5a y C5b-9 en plasma, LCR y médula espinal. Aumento de C3 en neuronas y astrocitos del asta ventral. Activación de C5b-9 y producción de C5a en músculo esquelético	Aumento de la concentración de C1q, C5a y C5b-9 en plasma, LCR y médula espinal. Aumento de C1q en placas terminales del músculo intercostal.

6. Conclusiones / conclusions

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos de la revisión bibliográfica sobre la Esclerosis Lateral Amiotrófica y el papel de la neuroinflamación en esta enfermedad, se concluye que:

- I. La Esclerosis Lateral Amiotrófica es una enfermedad neurodegenerativa que cada vez se diagnostica en un mayor número de personas, pero cuya etiopatogenia todavía no está clara. Es, por tanto, una necesidad clarificar todos los mecanismos que tienen lugar en el inicio y progresión de la enfermedad a fin de poder desarrollar terapias que logren evitar, frenar o curar la enfermedad.
- II. A pesar de existir modelos animales que permiten y facilitan el avance de las investigaciones sobre la ELA a nivel preclínico, es importante clarificar las diferencias entre las diferentes variantes y causas de ELA a fin de mejorar los modelos animales y los estudios experimentales para que los resultados puedan ser más representativos.
- III. Se ha demostrado la implicación de la neuroinflamación en la patogenia de la enfermedad, pero todavía no están claros los límites de sus efectos neuroprotectores y neurotóxicos. Así mismo, es imprescindible seguir investigando acerca del papel de cada uno de los componentes implicados en la neuroinflamación. Comprender los efectos favorables y desfavorables del proceso de neuroinflamación puede ser un pretexto para el desarrollo de terapias que estimulen o inhiban los diferentes componentes de la neuroinflamación según convenga.
- IV. En cuanto a la metodología empleada para la realización de este trabajo, destacar la importancia de diseñar estrategias de búsqueda adecuadas para cada una de las bases de datos empleadas. Entre todas las bases de datos que se han utilizado, la que ha dado mejores resultados ha sido MEDLINE tanto en calidad como en cantidad.
- V. Dada la gran importancia de los modelos animales en la investigación sobre la ELA, se hace imprescindible el papel de los veterinarios en este campo por sus conocimientos en anatomía y fisiología animal, biología celular, experimentación animal y la formación en técnicas de laboratorio.

Conclusions

According to the results obtained from the literature reviewed on Amyotrophic Lateral Sclerosis and the role of neuroinflammation in this disease, it is concluded that:

- I. Amyotrophic Lateral Sclerosis is a neurodegenerative disease that is increasingly diagnosed in a greater number of people, but whose etiopathogenesis is still unclear. It is, therefore, necessary to clarify all the mechanisms that take place in the onset and progression of the disease in order to develop therapies able to prevent, stop or cure the disease.
- II. Although there are animal models that allow and facilitate the advancement on ALS research at the preclinical level, it is important to clarify the differences between the multiple variants and causes of ALS in order to improve animal models and experimental studies so that we can obtain more representative results.
- III. The implication of neuroinflammation in the pathogenesis of the disease has been demonstrated, but the limits of its neuroprotective and neurotoxic effects are still unclear. Likewise, it is essential to continue investigating to the role of each of the components involved in neuroinflammation. Understanding the favorable and unfavorable effects of the neuroinflammation process can be a pretext for the development of therapies that stimulate or inhibit the different components of neuroinflammation as appropriate.
- IV. Regarding the methodology used to carry out this work, highlight the importance of designing appropriate search strategies for each of the databases used. Among all the data bases that have been used, the one that has given the best results has been MEDLINE, both in quality and quantity.
- V. Because of the great importance of animal models in ALS research, veterinarians are essential in this field for their knowledge in animal anatomy and physiology, cell biology, animal experimentation and training in laboratory techniques.

7. Valoración personal

La Esclerosis Lateral Amiotrófica es una enfermedad grave y por ahora incurable de la que aún se desconocen muchos aspectos. A lo largo de todo este proceso de búsqueda, recopilación y análisis de la información he podido adquirir una idea global de los conocimientos científicos actuales sobre la etiopatogenia de la Esclerosis Lateral Amiotrófica. Además, a partir de la investigación bibliográfica sobre la neuroinflamación he aprendido cómo funciona este mecanismo en las enfermedades neurodegenerativas y en concreto la importancia de este proceso en la ELA, tanto para clarificar la patogenia de la enfermedad como para desarrollar tratamientos médicos.

Con la realización de este Trabajo de Fin de Grado basado en una revisión bibliográfica he aprendido a manejar distintas bases de datos y a apreciar las diferencias, ventajas e inconvenientes de cada una de ellas. Conocer las herramientas de búsqueda que ofrece cada una de estas plataformas me ha permitido realizar una búsqueda sistematizada, específica y de calidad sobre un tema muy concreto. A lo largo de este proceso he ido tomando consciencia de la importancia de conocer y dominar correctamente dichas herramientas antes de iniciar una revisión bibliográfica. Conocer cada base de datos y planificar una estrategia de búsqueda permite acotar los resultados y facilita el análisis de la información.

Si bien es cierto que inicialmente tuve la sensación de que la complejidad de la materia y la falta de información concluyente haría muy difícil la redacción de este trabajo, la clasificación de la información desde lo más general a lo más específico me ha permitido describir de forma organizada y simplificada cada uno de los apartados de este TFG.

Con los conocimientos y habilidades adquiridas gracias a la realización de este trabajo espero ser capaz de buscar, analizar y sintetizar información científica sobre cualquier tema de interés.

8. Agradecimientos

A pesar de que el tema de estudio de este Trabajo de Fin de Grado no se relaciona directamente con el campo profesional al que pretendo dedicarme, éste es de gran interés para mí, por lo que agradezco haber tenido la oportunidad de investigar sobre la Esclerosis Lateral Amiotrófica. Por ello, doy las gracias a mis directores de TFG Ana Cristina Calvo Royo y Francisco Javier Miana Mena. Debo agradecerles también a mi familia y compañeros la ayuda y atención que me han prestado cuando les he pedido consejo u opinión durante la elaboración de este trabajo. Por último, dar las gracias a mi amigo Chechu y a su familia, a quienes tengo muy presente y me gustaría dedicar el presente trabajo.

9. Referencias bibliográficas

- Alexianu, M., Kozovska, M., y Apple, S. (2001). Immune reactivity in a mouse model of familial ALS correlates with disease progression. *Neurology*, 57, 1282-1289.
- Bahia El Idrissi, N., Bosch, S., Ramaglia, V., Aronica E., Baas, F. y Troost, D. (2016). Complement activation at motor end-plates in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*. 13:72.
- Beers, D., Henkel, J., Xiao, Q., Zhao, W., Wang, J., Yen, A., Siklos, L., McKercher, S., y Appel, S. (2006). Wild-type microglia extend survival in PU.1 knockout mice with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (43), 16021-16026.
- Bucheli, M., Campos, M., Bermudes, D., Chuquimarca, J., Sambache, K., Cheverrez, K., Niato, J., Montalvo, J., Andino, A., Calero, C., y Guerrero, P. (2012). Esclerosis lateral amiotrófica: criterios de El Escorial y la electromiografía en su temprano diagnóstico. *Revista Ecuatoriana de Neurología*, 21 (1-3), 61-68.
- Chiu, I., Chenb, A., Zhenga, Y., Kosarasc, B., Tsiftogloua, S., Vartiananc, T., Brown B., y Carrolla, M. (2008). T lymphocytes potentiate endogenous neuroprotective inflammation in a mouse model of ALS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105 (46), 17913-17918.
- Ekester, E. (2004). Neurotrophic Factors and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurodegenerative Diseases*, 1 (2-3), 88-100.
- Esquerda-Colell, J. (2006). Esclerosis lateral amiotrófica. *Mente y cerebro*, 17, 83-92.
- Heurich, B., Bahia el Idrissi , N., Donev, RM., Petri, S., Claus, P., Neal ,J., Morgan, P., y Ramaglia, V. (2011). Complement upregulation and activation on motor neurons and neuromuscular junction in the SOD1 G93A mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Jornal of Neuroimmunology*, 235, 104 – 109.
- Hooten, K., Beers, D., Zhao, W., y Apple, S. (2015). Protective and toxic neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotherapeutics*, 12, 364-375.

- Howland, D., Liu, J., She, Y., Goad, B., Maragakis, N., Kim, B., Erickson, J., Kulik, J., DeVito, L., Psaltis, G., DeGennaro, L., Cleveland, D., y Rothstein, J. (2002). Focal loss of the glutamate transporter EAAT2 in a transgenic rat model of SOD1 mutant-mediated amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (3), 1604-1609.
- Kálmán, M. (2004). Glial reaction and reactive glia. *Advances in Molecular and Cell Biology*, 31, 787-835.
- Kang, S., Li, Y, Fukaya, M., Lorenzini, I., Cleveland ,D., Ostrow,L., Rothstein, J., y Bergles, D. (2013). Degeneration and impaired regeneration of grey matter oligodendrocytes in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature neuroscience*, 16 (5), 571-579.
- Kiernan, M., Vucic, S., Cheah, B., Turner, M., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J., y Zoing, M. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet*, 377, 942-955.
- Kjældgaard, A., Pilely, K., Skovgaard, K., Wørlich, S., Øberg, A., Møller, K. y Garred, P. (2018). Amyotrophic lateral sclerosis: The complement and inflammatory hypothesis. *Molecular Immunology*. 5809 (18), 30196-30208.
- Komine, O., y Yamanaka, K. (2015). Neuroinflammation in motor neuron disease. *Nagoya Journal of Medical Science*, 77, 537-549.
- Lasiene, J., y Yamanaka, K. (2011). Glial cells in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology Research International*, 2011 , 1-7.
- Lepore, A., Rauck, B., Dejea, C., Pardo, A., Rao, M., Rothstein, J., y Maragakis, N. (2008). Focal transplantation-based astrocyte replacement is neuroprotective in a model of motor neuron disease. *Nature neuroscience*, 11 (11), 1294-1301.
- Liu, J., y Wang, F. (2017). Role of neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: cellular mechanisms and therapeutic implications. *Frontiers in immunology*, 8:1005
- Lobsiger, CS., Boillée, S., Pozniak, C., Khan, AM., McAlonis-Downes, M., Lewcock, JW., y Cleveland, DW. (2013). C1q induction and global complement pathway activation do not

contribute to ALS toxicity in mutant SOD1 mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 4385-4392.

Nonneman, A., Robberecht, W., y Van Den Bosch, L. (2014). The role of oligodendroglial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Nuerodegenerative Disease Management*, 4(3), 223 – 239.

Papadeas, S., Kraig, S., O'Banion, C., Lepore, A., y Maragakis, N. (2011). Astrocytes carrying the superoxide dismutase 1 (SOD1G^{93A}) mutation induce wild-type motor neuron degeneration in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (43), 17803-17808.

Pehar, M., Cassina, P., Vargas, M., Castellanos, R., Viera, L., Beckman, J., Estévez, A., y Barbeito, L. (2004). Astrocytic production of nerve growth factor in motor neuron apoptosis: implications for amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurochemistry*, 89, 464-473.

Philips, T., y Rothstein, J. (2016). Rodent Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Current Protocols in Pharmacology*, 69, 5.67.1–5.67.21.

Rosen, D., Siddique, T., Patterson D., Figlewicz, D., Sapp, P., Hentati, A., Donaldson, D., Goto, J., O'Regan, J., Deng, H., Rahmani, Z., Krizus, A., McKenna, D., Cayabyab, A., Gaston, S., Berger, R., Tanzi, R., Halperin, J., Herzfeldt, B., Van den Bergh, R., Hung, W., Bird, T., Deng, G., Mulder, D., Smyth, C., Laing, N, Soriano, E., Pericak-Vance, M., Haines, J., Rouleau, G., Gusella, J., Horvitz, R., y Brown, R., (1993). *Nature*, 362, 59-62.

Rowland, L., y Shneider, N. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 344 (22), 1688-1700.

Saberi, S., Stauffer, J., Schulte, D., y Ravits, J. (2015). Neuropathology of amyotrophic lateral sclerosis and its variants. *Neurologic clinics*, 33 (4), 855-876.

Shaw, P. (2005). Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 76, 1046-1057.

- Talbott, E., Malek, A., y Lacomis, D. (2016). The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. En *Handbook of Clinical Neurology*, (pp. 225-238). C. Rosano, M.A. Ikram y M. Ganguli (Eds.). Pittsburgh: Elsevier.
- Valori, C., Brambilla, L., Martorana, F., y Rossi, D. (2013). The multifaceted role of glial cells in amyotrophic lateral sclerosis. *Cellular and Molecular Life Science*, 71 (2), 287-297.
- Wang, L., Gutmann, D., y Roos, R. (2010). Astrocyte loss of mutant SOD1 delays ALS disease onset and progression in G85R transgenic mice. *Human Molecular Genetics*, 20 (2), 286-293.
- Wijesekera, L., y Leigh, N. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 4:3.
- Woodruff, TM., Costantini KJ., Crane, JW., Atkin JD., Monk, PN., Taylor, SM., y Noakes, PG. (2008) The Complement Factor C5a Contributes to Pathology in a Rat Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Journal of Immunology*, 181, 8727-8734.
- Yamanaka, K., Chun, S., Boillee, S., Fujimori-Tonou, N., Yamashita, H., Gutmann, D., Takahashi, R., Misawa, H., y Cleveland, D. (2008). Astrocytes as determinants of disease progression in inherited ALS. *Nature Neuroscience*, 11 (3), 251-253.