

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



Trabajo de Fin de Grado

**“PAPEL DE LA MICROGLÍA EN LA PATOGENIA DE  
ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS”**



SARA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ

# TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Farmacia

## “PAPEL DE LA MICROGLÍA EN LA PATOGENIA DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS”

-Trabajo de Revisión Bibliográfica-

**Sara Hernández González**

Facultad de Farmacia, Sevilla

Julio de 2019

**Tutor**

José Luis Venero

**Dpto. Bioquímica y Biología Molecular**



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

Resumen: La microglía son las células del sistema nervioso central encargadas del mantenimiento de la inmunidad innata, las respuestas de defensa y la correcta conexión sináptica y, por lo tanto, su normal funcionamiento conduce a una homeostasis neuronal. Este estado homeostático se ve alterado tanto en el envejecimiento como en ciertas patologías neurodegenerativas, en las cuales las células de la microglía experimentan una activación que conlleva una excesiva inflamación y con ello la aparición de neurotoxicidad. En estas patologías, como son Alzheimer, Parkinson o Esclerosis Múltiple, donde se llega a observar en ciertos casos la supresión o mutación de genes que codifican para factores de transcripción reguladores de la homeostasis, el fenotipo transcripcional cambia y las células de la microglía expresan en su superficie unas proteínas receptoras específicas. Estos receptores de superficie reconocerán ligandos para dar pie a unas rutas cuyo desenlace será la neuroinflamación y, con ello, el avance desfavorable de estas enfermedades que en la actualidad carecen de tratamiento curativo. Aunque la microglía no sea el principal desencadenante de estas patologías, juega un papel importante en el desarrollo progresivo de la patogenia de estas, lo que lleva a pensar que el posible tratamiento terapéutico pueda estar relacionado con ella. Profundizar en las características que diferencian a la microglía en la salud de aquella en estado patológico y conocer los mecanismos moleculares por los que se producen dichas alteraciones son la base o el primero de los pasos del desarrollo de un potencial tratamiento farmacológico que centre su objetivo en las células de la microglía como diana, modificando o frenando así el transcurso de la enfermedad.

Palabras clave: microglía, neurodegeneración, inflamación, fenotipo transcripcional, homeostasis, sistema nervioso central

## Índice

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
<b>2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN .....</b>	<b>4</b>
<b>3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>5</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>5</b>
4.1 La microglía. Características y funciones.....	5
4.2 Fenotipos adquiridos por la microglía.....	6
4.3 Receptores presentes en la microglía .....	8
4.4 Rutas/marcadores de regulación de la activación de la microglía.....	11
4.5 Patologías en las que interviene la microglía .....	14
4.5.1 Alzheimer .....	14
4.5.2 Parkinson.....	16
4.5.3 Esclerosis Lateral Amiotrófica .....	17
4.5.4 Esclerosis múltiple.....	17
4.6 Microglía con fenotipo DAM .....	18
4.6.1 Ruta de señalización TREM2-Apo E.....	19
4.7 Microglía como diana para tratamiento .....	21
4.7.1 Moléculas utilizadas .....	22
4.7.2 Biomarcadores .....	23
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>24</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>25</b>

## **1. INTRODUCCIÓN**

A partir del siglo XX y gracias a los avances científico-técnicos acontecidos hasta el día de hoy, la esperanza de vida humana ha aumentado considerablemente, aunque siguen existiendo limitaciones. Una de las causas de mortalidad que ha aumentado, así como su prevalencia e incidencia, con la consecuencia de un gran impacto económico y social son las enfermedades neurodegenerativas. Tras largos períodos de investigación, el origen biológico de las enfermedades neurodegenerativas sigue siendo en su mayor parte desconocido, propiciando que estas sean incurables y que los fármacos o terapias que existen frente a ellas sean únicamente para prevenir o frenar su aparición y alargar la supervivencia y calidad de vida.

Para poder enfrentarnos a estas, es necesario analizar los factores que intervienen en las mismas. La microglía, como encargada de la inmunidad innata del SNC, juega un papel importante en la patogenia de este tipo de enfermedades en las cuales se ve afectada, adoptando un fenotipo distinto a aquel en condiciones fisiológicas. Por ello, la actividad de la microglía, sus correspondientes factores de transcripción y multitud de genes que modulan su actividad (receptores, factores de complemento, interleucinas) están siendo objeto principal de estudio tanto en la salud como en el contexto de la neurodegeneración, propiciando un conocimiento mayor de esta y abriendo camino a una potencial intervención terapéutica que frene el desarrollo de este tipo de patologías del sistema nervioso central.

## **2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN**

Con esta revisión se persigue describir las funciones de la microglía en estado de homeostasis y describir los fenómenos que llevan a su desregulación, presente en las principales patologías neurodegenerativas. Además, pretende analizar cómo se regula la firma de la microglía en la enfermedad a través de los cambios en los niveles de sus principales factores de transcripción, que regulan los niveles de expresión de citosinas (como interleucinas), quimiocinas proinflamatorias, factores estimulantes de colonias, receptores de superficie para ligandos proinflamatorios (como TREM2, receptores Scavenger, receptores tipo Toll), inflamasomas, moléculas asociadas a complemento, especies reactivas de oxígeno o nucleótidos proinflamatorios, entre otros, encargados de provocar neuroinflamación. Por último, la parte final de la revisión concluye proponiendo un posible uso de la microglía como diana de tratamientos farmacológicos en las distintas fases de las enfermedades neurodegenerativas, en las cuales aumentar la actividad o inhibir la microglía repercute de forma favorable a frenar el desarrollo de la patología.

### **3. METODOLOGÍA**

Se ha recogido información de la base de datos bibliográfica especializada en el campo de la salud, PubMed (NCBI), de donde se han obtenido tanto artículos científicos experimentales como las revisiones en las cuales se basa este TFG. Se trata de un conjunto de revisiones en inglés de entre los años 2012 y 2018, publicadas en revistas científicas tales como Nature Neuroscience, Trends in Molecular Medicine, Nature Medicine, The Journal of Clinical Investigation, Immunity o Cell, entre otras. Para obtener los textos completos se ha utilizado la oferta bibliográfica brindada por la Universidad de Sevilla (bib.us.es).

### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.1 La microglía. Características y funciones.**

La microglía es el conjunto de células primarias de inmunidad innata del SNC que aparecen en el estado embrionario y se va renovando a lo largo de la vida adulta. Se origina en el saco embrionario, en el mesodermo, y se genera a partir de las células hematopoyéticas (Butovsky y Weiner, 2018).

En condiciones fisiológicas se encarga de la defensa, la respuesta inmune y el mantenimiento de la homeostasis del SNC (Shen et al., 2018). Desde el comienzo de la vida del ser humano actúa como modelador del SNC, redefiniendo la red de sinapsis y las conexiones cerebrales. Esto lo realiza fagocitando axones y conexiones sinápticas erróneas, contribuyendo al desarrollo del cerebro dando forma a los circuitos neuronales. Su función es la de un macrófago tisular, fagocitando también células apoptóticas. Por ello las células de la microglía expresan numerosos y diferentes factores estimulantes de macrófagos, que también son expresados por las demás células inmunitarias. La discrepancia está en que estas últimas lo hacen en cantidades distintas, lo que nos permite diferenciar cuál de ellos está actuando según el nivel de expresión de cada factor (Butovsky y Weiner, 2018). También se puede reconocer o distinguir de las demás por su unión a anticuerpos específicos. La microglía, además, contribuye al desarrollo de los oligodendrocitos, las células que mielinizan los axones en el sistema nervioso central (Butovsky y Weiner, 2018). Diversos estudios concluyen que la microglía secreta factores tróficos solubles para incrementar la proliferación neuronal y promover la diferenciación neuronal in vitro, promoviendo así que se dé de forma favorable tanto la neurogénesis como la oligodendrogénesis (Hagemeyer et al., 2017).

El papel de la microglía en condiciones fisiológicas no es del todo conocido, sin embargo, el estudio de su desregulación está aportando conocimiento mediante el análisis de su papel durante el desarrollo de patologías cerebrales.

#### 4.2 Fenotipos adquiridos por la microglía

La microglía mantiene la homeostasis en el cerebro en condiciones fisiológicas, y conduce a la fagocitosis y media una respuesta neuroinflamatoria de reparación del tejido ante el daño cerebral. Cuando está expuesta a patógenos se polariza a un fenotipo proinflamatorio y libera factores inflamatorios para defenderse de la infección. También actúa facilitando el reclutamiento de monocitos al SNC.

Por todo ello, podría decirse que en condiciones de salud la microglía tiene un perfil transcripcional específico y una expresión de proteínas de superficie diferente a aquel que expresa en la enfermedad o con el envejecimiento. (Butovsky y Weiner, 2018). Cuando comenzaron los primeros estudios de la microglía, esta se clasificaba fenotípicamente según la expresión de citoquinas y células de superficie en dos perfiles (figura 1):

M1: fenotipo proinflamatorio o neurotóxico. Estimulado por lipopolisacáridos o interferón gamma in vitro y asociado a la producción de factores inflamatorios incluyendo IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y óxido nítrico.

M2: fenotipo antiinflamatorio. Estimulado por IL-4 ó IL-13, conduciendo a la producción de factores como IL-10 y arginasa-1 que promueven la remodelación del tejido. También se produce la liberación del factor de crecimiento o citoquina TGF- $\beta$ , con un papel inmunitario homeostático importante por su función inmunosupresora y antiinflamatoria. Este fenotipo antiinflamatorio se subdivide en M2a, M2b y M2c según su mecanismo de activación (Walker y Lue, 2015).

Estos estados de polarización se encuentran detallados en la figura 1, junto con los marcadores tanto solubles como de superficie que expresa la microglía en cada uno de dichos fenotipos.

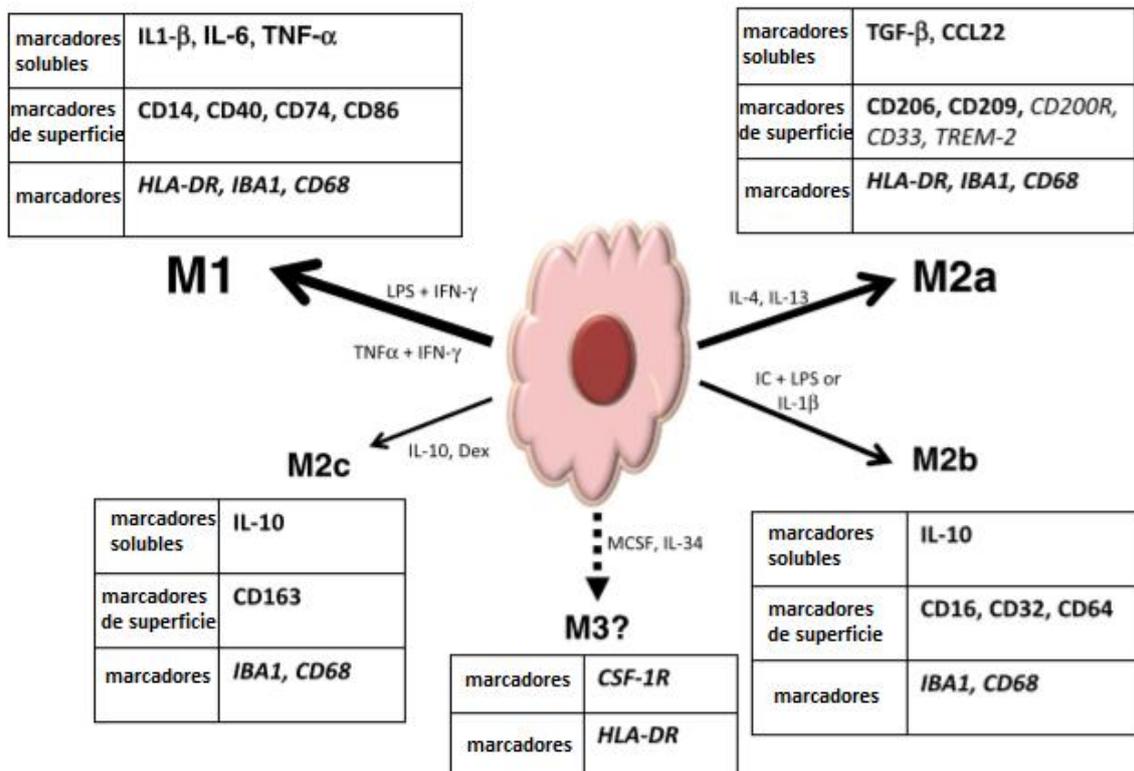


Figura 1. Posibles marcadores de fenotipo microglial del sistema nervioso central. Esquema que ilustra los distintos marcadores o indicadores que podrían ser usados para identificar los diferentes fenotipos en el cerebro humano. Los datos muestran marcadores obtenidos de más de un estudio. Se incluyen marcadores cuya función sugiere su polaridad (ejemplo: C200R, CD33 y TREM2) pero sus datos no han sido publicados en microglía humana. Ligando de quimiocina CCL, receptor de CD200 CD200R, receptor de factor estimulante de colonias 1 CSF-1R, molécula adaptadora de unión a calcio ionizado IBA1, interferón gamma IFN- $\gamma$ , interleuquina IL, lipopolisacárido LPS, factor de crecimiento transformante TGF, factor de necrosis tumoral TNF, receptor activador 2 expresado en células mieloides TREM2.

(Adaptación de Walker y Lue, 2015)

Dicho esto, es necesario aclarar que el modelo de clasificación M1/M2 es únicamente orientativo, ya que está basado en la polarización de los macrófagos periféricos y que actualmente no refleja de forma exacta la activación de la microglía, pudiendo resultar demasiado simple para explicar los diferentes estados de polarización complejos que esta adquiere in vivo (Shen et al., 2018). Para hablar de estos modelos de activación será más correcto referirse, por ejemplo, al término DAM microglía (microglía asociada a enfermedad) o

al fenotipo MGnD “fenotipo de microglía neurodegenerativa”, que definiremos posteriormente.

#### 4.3 Receptores presentes en la microglía

La microglía posee ciertos receptores para detectar el daño neuronal. El glutamato, por ejemplo, es abundante en el tejido neuronal y es de los principales neurotransmisores. En situaciones patológicas, el receptor de glutamato puede estar sobreactivado causando daño neuronal o excitotoxicidad. Lo mismo ocurre en estado patológico con el ATP cuando se libera de forma excesiva por parte de las células dañadas (Shen et al., 2018). Esto se traduce como señal de peligro en el cerebro, haciendo a las neuronas más susceptibles a la lesión, induciendo una respuesta neuroinflamatoria y promoviendo el reclutamiento de células de microglía y astrogliosis. Otro ejemplo es la adenosina, que actuando sobre su correspondiente receptor en la microglía (A2AR) favorece el estado ameboide de la misma, participando en la reactividad de esta y por lo tanto en la neuroinflamación (Shen et al, 2018)

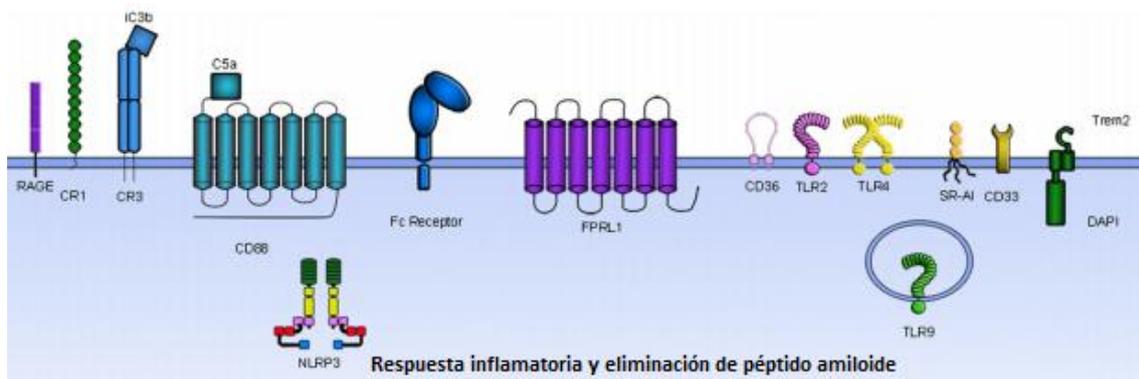
Los receptores principales que se han observado o cuyo número ha incrementado en la microglía activada son (Doens y Fernández, 2014):

- Receptores Scavenger (SRs). Participan en la adhesión celular y en la internalización de ligandos lipoproteicos. En la microglía del SNC se describen dos tipos: Los de clase A (SR-A) en sus tres isoformas y los de clase B tipo 2 también conocido como CD36. Ambos están muy asociados a la patogénesis del Alzheimer ya que son capaces de anclarse e internalizar los péptidos  $\beta$ -amiloide provocando la respuesta inflamatoria.
- Receptores tipo Toll (TLRs, con tipos del 1 al 9). Reconocen patrones moleculares asociados a daño y a patógenos. La activación de estos receptores desencadena rutas de señalización que conducen a la producción de mediadores proinflamatorios como citoquinas, óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno. Son cruciales como primera línea de defensa contra moléculas tanto endógenas como exógenas y todos los tipos se han asociado a microglía en estado activado y a neurotoxicidad. Los estudios demuestran que, aunque provocan una inflamación como respuesta provocando efectos neurotóxicos, juegan un papel neuroprotector beneficioso en la enfermedad de Alzheimer contribuyendo a la eliminación de la placa  $\beta$ -amiloide. Esto último se refleja en diversos estudios. En uno de ellos in vitro, la estimulación de las células de la microglía con ligandos de TLR4 como lipopolisacáridos demostraba un incremento en la fagocitosis de péptido  $\beta$ -amiloide (Kazuki et al, 2018). Además, ratones con déficit de respuesta a lipopolisacárido mediada por TLR4 (TLR4 Lps-d) mostraban un aumento

en la carga del péptido in vivo y un descenso en la fagocitosis del mismo in vitro (Kazuki et al, 2018). Por último, otros experimentos in vivo con modelos de ratones con Alzheimer y mutación en TLR4 mostraban déficits en aprendizaje espacial con niveles elevados de  $\beta$ -amiloide en el cerebro (Song et al, 2011)

- Receptores del complemento: CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b/CD18), CR4 (CD11c/CD18) y C5aR (CD88 and C5L2). Participan en la cascada del sistema del complemento encargado de la respuesta inflamatoria
- Receptores Fcs: Fc $\alpha$ R, Fc $\delta$ R, Fc $\mu$ R, Fc $\epsilon$ R y Fc $\gamma$ R (específicos para sus tipos de inmunoglobulinas). Se anclan a la región constante de las inmunoglobulinas A, D, M, E y G respectivamente activando la fagocitosis, la degranulación y la secreción de citoquinas y quimiocinas
- Receptores de productos finales de glicación avanzada (RAGEs). Reconocen dichos tipos de ligando (proteínas o lípidos) que se generan en el envejecimiento y en enfermedades crónicas degenerativas. También reconocen el péptido  $\beta$ -amiloide. La unión de los ligandos a estos receptores provoca la activación del factor nuclear NF- $\kappa$ B, que controla los genes que regulan la inflamación.
- Receptores de los péptidos formilados (FPRs). Se encargan de mediar la actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos y demás células fagocíticas.
- Receptor o inflamasoma NLRP3. Su activación permite el reclutamiento de la proteína adaptadora ASC que activa a la caspasa-1 responsable de la maduración de las interleuquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  y IL-18. (Hernández Lopez et al., 2012).
- TREM-2. Promueve principalmente la activación de la microglía y la fagocitosis (Butovsky y Weiner, 2018). Aunque, como veremos posteriormente, se encuentra presente en cierta medida formando parte de los receptores que mantienen el estado homeostático de la microglía, su ruta de señalización es de vital importancia en el fenotipo inflamatorio que adquiere la microglía asociada a enfermedad o neurodegeneración (Kierdorf y Prinz, 2013) (figura 5). Su activación en el Alzheimer, por ejemplo, permite la internalización de las fibras que componen  $\beta$ -amiloide (figura 2).

A modo de ejemplo, en la siguiente figura 2 se representa la superficie de la microglía activada con los correspondientes receptores implicados en un caso de Alzheimer.

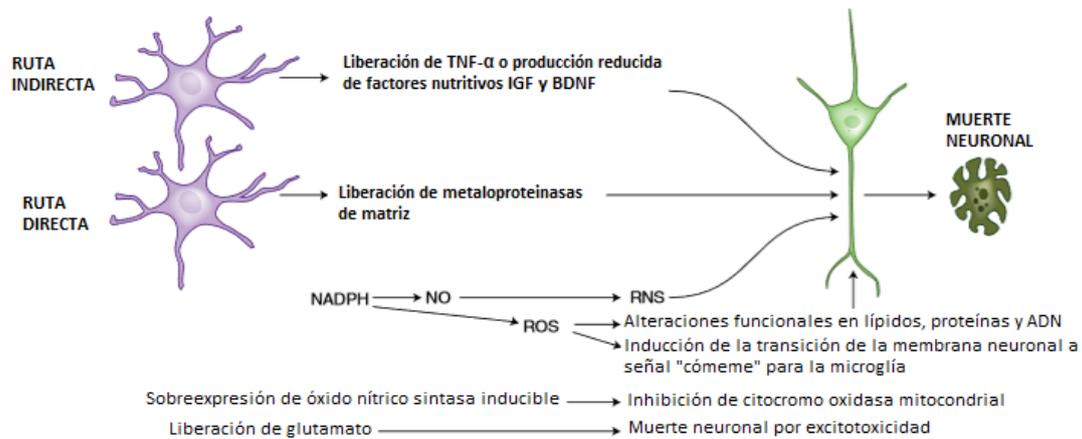


**Figura 2. Receptores de la microglía implicados en la cascada amiloide. Diversos receptores de la microglía están involucrados en la supresión de  $\beta$ -amiloide y en desencadenar una respuesta inflamatoria. Algunos receptores (RAGE, NLRP3) están implicados principalmente en la generación de la respuesta inflamatoria mediante la inducción de una cascada de señalización que resulta en la producción de mediadores proinflamatorios. Otros receptores (SR-AI, TREM2) están implicados en la eliminación de  $\beta$ -amiloide mediante la internalización de las fibras amiloides. Algunos receptores (receptores de complemento, receptores Fc, FPRL1/FPR2, C36, TLR) están implicados en ambos procesos. CD33 parece promover la acumulación  $\beta$ -amiloide.**

**(Adaptación de Doens y Fernández, 2014)**

Como consecuencia de la activación sostenida de la microglía se desencadena una ruta que promueve el origen y avance de la neurodegeneración, cuyo resultado será el daño o la destrucción de neuronas. La microglía homeostática se activa en presencia de moléculas susceptibles de fagocitar como patógenos infecciosos, péptido  $\beta$ -amiloide (en Alzheimer), PrPsc (en Enfermedades priónicas),  $\alpha$ -sinucleína agregada (en Parkinson) o SOD1 mutado (en Esclerosis Lateral Amiotrófica). Como consecuencia, se activa el complejo NADPH oxidasa, que reduce el NADPH citosólico a NADP<sup>+</sup>, con la concomitante liberación del radical superóxido. Este superóxido se libera y bien es transformado en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por SOD extracelular o reacciona con NO para producir peroxinitrito (especies reactivas de oxígeno y nitrógeno respectivamente) causando necrosis celular o apoptosis (Figura 3). La microglía también causa muerte neuronal mediante la sobreexpresión de óxido nítrico sintasa inducible o liberando glutamato de forma directa (Brown y Vilalta, 2015)(Figura 3). Distintas proteasas de la microglía como las catepsinas se liberan en respuesta a  $\beta$ -amiloide para desencadenar apoptosis, y las metaloproteinasas causan daño neuronal mediante hipoxia isquémica. La microglía también puede dañar neuronas de forma indirecta, bien liberando TNF o bien reduciendo la producción

de factores protectores como BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) o IGF (factor de crecimiento tipo insulínico), causando así apoptosis (Hickman et al., 2018). Todo ello se encuentra expresado gráficamente en la figura 3.



**Figura 3. Rutas indirecta y directa que desencadenan la muerte neuronal cuando la microglía es activada y abandona su estado homeostático.**

(Adaptación de Hickman et al., 2018)

#### 4.4 Rutas/marcadores de regulación de la activación de la microglía

Para evitar que la muerte neuronal por apoptosis mencionada en el apartado anterior ocurra de forma ininterrumpida, la microglía cuenta con unos puntos de control inmunitarios. De forma similar al sistema inmune periférico, la activación inmune puede tener consecuencias perjudiciales para los tejidos si esta no está equilibrada por reguladores negativos, que previenen de la reacción exagerada a estímulos externos. Estos incluyen TREM2, CX3CR1, CD200, la ruta progranulina (control la inflamación) y ruta Scavenger Receptor (eliminación de estímulos perjudiciales). Estas moléculas son conocidas como "moléculas inhibitorias" y se encuentran en la superficie de la microglía para reconocer así a los ligandos a los que unen y detener la inflamación (Figura 4). La desregulación de cualquiera de estas vías inicia o empeora la neurodegeneración (Kierdorf y Prinz, 2013). Algunas señales exógenas que modulan la activación de la microglía son:

- La proteína CD200 es una molécula de superficie altamente expresada en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos y su receptor, CD200R, se encuentra exclusivamente en macrófagos y microglía del SNC. La interacción de ambos provoca la inactivación de la microglía haciendo que esta vuelva a su estado homeostático. Ensayos en ratones

deficientes de la molécula CD200 demuestran un aumento de quimiocinas proinflamatorias (Hoek et al., 2000). Además, en ensayos de animales con Esclerosis Múltiple, el déficit en CD200 se traducía en una mayor rapidez de propagación de la enfermedad (Hoek et al., 2000).

- El receptor de quimiocina CX3CR1 se expresa en monocitos, macrófagos, células dendríticas y células natural killers (NK). Su único ligando conocido, CX3CL1, también conocido como fractalquina, se expresa en distintos subconjuntos de neuronas en el SNC adulto. La unión entre CX3CR1 neuronal y CX3CR1 microglial juega un papel fundamental en la interacción de neuronas y microglía. Esto se demuestra en diversos estudios en animales en los que se pone de manifiesto que un déficit en CX3CR1 se traduce en una menor supervivencia de microglía e inmadurez de circuitos neuronales (Paolicelli et al., 2011), además de una formación anormal de sinapsis por parte de la microglía en la corteza somatosensorial (Hoshiko et al., 2012). También se ha encontrado que mutaciones inactivadoras en este receptor provocaba a los animales un efecto perjudicial en la neurogénesis y en la integridad del circuito del hipocampo (Kierdorf y Prinz, 2013). Todo ello demuestra que este modulador mantiene el estado de “reposo” de la microglía (figura 4), impidiendo la disminución de la neurogénesis que viene mediada por niveles altos de citoquinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$ , secretadas por la microglía activada.
- CD47 es una proteína transmembrana expresada en la superficie de las neuronas que transmite una señal de “no me comas” a la microglía (figura 4), cuando se une al receptor CD172a/Sirp Alpha (Biber et al., 2007).
- TREM-2 (receptor expresado en células mieloides 2) es otra glicoproteína identificada en la microglía cuando esta se encuentra en su fenotipo antiinflamatorio. Está asociado a la proteína adaptadora DAP12 y, opuestamente a CD47, su cascada de señalización promueve la fagocitosis (“cómeme”) por parte de la microglía de, por ejemplo, la membrana celular de las células apoptóticas (Kierdorf y Prinz, 2013) (figura 4). Las mutaciones en TREM-2 o en DAP12 están asociadas a enfermedades neurodegenerativas, como se detallará posteriormente, siendo su ruta de señalización de vital importancia en el fenotipo que adquiere la microglía asociada a enfermedad (figura 5).
- El receptor Csfr1 (receptor para el factor estimulante de colonias 1), que se une al factor Csf1, es esencial en el desarrollo de señales y supervivencia celular de la microglía. Estudios concretos demuestran que este factor es esencial para el desarrollo de la microglía y de los macrófagos primitivos en el saco vitelino, y que ratones

deficientes en *Csf1r* presentan escasez de fagocitos mononucleares y ausencia total de microglía (Ginhoux et al., 2010). Posteriormente, se ha descubierto otro ligando para este mismo receptor, conocido como IL-34. Este ligando también se relaciona con la cantidad de microglía existente en el SNC, concretamente en regiones específicas del cerebro como la corteza o el hipocampo, donde IL-34 juega un papel importante en la supervivencia y en la homeostasis de dicha microglía (Greter et al., 2012).

- Por último, y como se ha mencionado anteriormente, la liberación de nucleótidos como ATP en el SNC provoca una respuesta inflamatoria en el parénquima, especialmente tras un daño nervioso, lo que desencadena una activación de la microglía (figura 4). Esta activación se produce debido a la interacción con los receptores purinérgicos (ionotrópicos y metabotrópicos) de la superficie de la microglía. Los nucleótidos muestran una función efectora importante en la respuesta temprana al daño, ya que inician de forma rápida el reclutamiento de microglía a las zonas dañadas para la liberación de factores neurotróficos. Todo ello hace que los receptores purinérgicos sean importantes en la reparación de las neuronas dañadas y en el mantenimiento de la homeostasis tisular por parte de la microglía (Inoue, 2002).

La figura 4 refleja ejemplos de receptores de cada tipo de los anteriores mencionados.

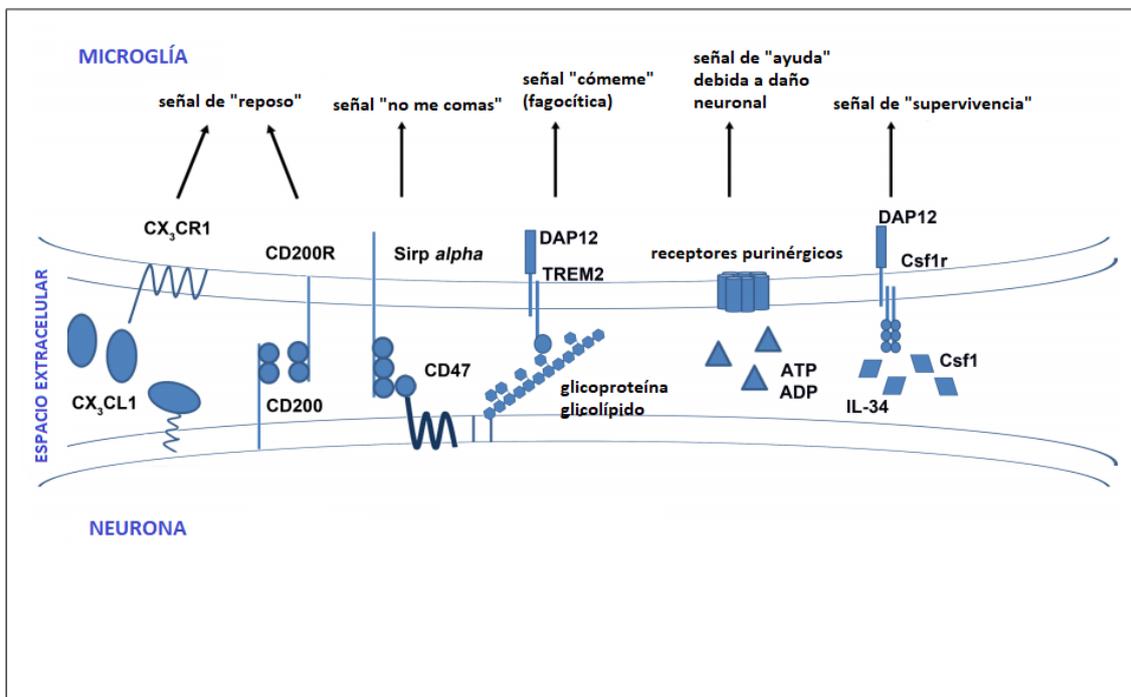


Figura 4. Principales receptores inhibidores de la respuesta inmunitaria inflamatoria, así como los ligandos respectivos a los que reconocen. Actúan desde la superficie de la microglía

**como puntos de control para prevenir una respuesta exagerada a estímulos externos y con ello una sobreactivación de la microglía.**

**(Adaptación de Kierdorf y Prinz, 2013)**

En este punto es donde radica la cuestión principal de la investigación. Durante el desarrollo de numerosas enfermedades relacionadas con el SNC, la microglía pierde homeostasis molecular y funciones, como su papel en la plasticidad sináptica, convirtiéndose en inflamatoria de forma crónica. Este deterioro de la microglía se ha identificado en enfermedades como Alzheimer, ELA y Esclerosis Múltiple (Butovsky y Weiner, 2018).

Además de estas patologías, con la edad, la microglía adquiere un fenotipo hipersensible y proinflamatorio, perdiendo también sus propiedades de homeostasis.

#### **4.5 Patologías en las que interviene la microglía**

Independientemente de la enfermedad específica que se describa a continuación se observa que la microglía, con el tiempo, se transforma a un estado activado, y que este cambio está relacionado con señales periféricas que ocurren durante el envejecimiento o la enfermedad.

##### **4.5.1 Alzheimer**

Es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la acumulación de placas neuríticas compuestas de  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares formados principalmente por la proteína tau hiperfosforilada, que son rodeados por astrocitos y microglía reactivos. Son características la glía reactiva y la inflamación neuronal (Dionisio-Santos et al., 2019). La microglía juega un papel importante como desencadenante de la patología ya que numerosas mutaciones que otorgan riesgo de contraer la misma están asociadas a la respuesta inmune.

Aunque esta microglía reactiva es importante para fagocitar la placa amiloide y limitar su propagación, su fenotipo proinflamatorio tiene un impacto en la homeostasis del SNC. La microglía rodea las placas beta-amiloides y provoca inflamación, aunque se desconoce si actúa de manera favorable o contraproducente. Aquí se introduce el término DAM (Disease-Associated Microglía) o microglía asociada a enfermedad (Keren-Shaul et al., 2017).

La “Disease-Associated Microglia” (DAM) es una microglía que expresa una firma transcripcional y funcional única. En los estudios realizados, esta se encuentra en patologías como el Alzheimer y en otras condiciones neurodegenerativas como ELA, taupatías, Esclerosis Múltiple, Demencia Frontotemporal y la vejez. Los marcadores microgliales que esta expresa

coinciden con una disminución de genes de homeostasis de la microglía, entre los que destacan P2ry12, P2ry13, CX<sub>3</sub>CR1, CD33 y Tmem119. Además, DAM incrementa la expresión de genes involucrados en las rutas lisosomales y fagocíticas, incluyendo algunos factores de riesgo conocidos para Alzheimer como ApoE, Ctsd, Lpl, Tyrobp y TREM-2. Dado que esta microglía DAM solo se ha detectado en regiones afectadas en pacientes o en modelos de ratones con dichas patologías, lleva a pensar que este fenotipo es una respuesta del SNC a la patología, sin importar la etiología de esta.

En la enfermedad de Alzheimer, la activación de la microglía asociada a placas  $\beta$ -amiloides ocurre en dos fases: la transición de la microglía homeostática a fase 1 DAM (de manera TREM-2 independiente), seguida de la transición a fase 2 DAM (de forma TREM-2 dependiente). Este proceso de activación ocurre cuando se detectan señales de daño neurodegenerativo o patrones moleculares denominados NAMPs (neurodegeneration-associated molecular patterns o patrones moleculares asociados a neurodegeneración), los cuales son reconocidos por los receptores de la microglía, convirtiéndose esta en una microglía asociada a enfermedad cuya función es contener y eliminar el daño. Algunos ejemplos de estos NAMPs pueden ser moléculas dañinas presentes en cuerpos apoptóticos de células neuronales en proceso de muerte, restos de mielina, productos de degradación de lípidos o agregados extracelulares de proteínas típicos en patologías neurodegenerativas (placas  $\beta$ -amiloides) entre otros. Por lo tanto, conociendo esto, se puede afirmar que la microglía DAM aparece en patologías como ELA, Alzheimer, el envejecimiento y la desmielinización. Para asegurar esta teoría se utilizaron modelos de ratones sanos en los que se inyectó neuronas apoptóticas. Esto desencadenó una respuesta fagocítica de emergencia por parte de la microglía, que se unía a los restos de las células y las fagocitaba, mostrando cambios transcripcionales idénticos a los de las células DAM (Butovsky y Weiner, 2018). En estos ensayos in vivo, además, se demuestra que TREM2 es un receptor esencial en la inducción del fenotipo DAM ante mielina dañada. Sin embargo, la microglía DAM, aunque está presente en las patologías neurodegenerativas enumeradas, no puede afirmarse con certeza que tenga un papel perjudicial en dicha enfermedad.

Hay hallazgos que ponen de manifiesto de forma más clara que TREM2 y la microglía asociada a enfermedad juegan papeles adicionales en la neurodegeneración, además de la fagocitosis de proteínas mal plegadas. Prueba de ello es un estudio en el cual se inyectan neuronas apoptóticas a ratones deficientes en TREM2 anulando prolongadamente la inducción del fenotipo DAM. Sin embargo, esto no frenó de ninguna forma la actividad fagocítica de la microglía que se encontraba rodeando la zona de inyección (Krasemann et al., 2017). De forma

similar, se comprueba que la microglía deficiente en TREM2 fagocitaba las células apoptóticas de forma tan eficiente como lo hace una microglía sin este déficit in vitro (Wang et al., 2015).

Todo lo mencionado hace que se piense en las células de la microglía como diana terapéutica en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Distintas observaciones concluyen que potenciar la actividad DAM en estados tempranos de enfermedad, o de manera preventiva antes de que la enfermedad aparezca, puede presentar una estrategia eficaz para desterrar cualquier señal de neurodegeneración tan pronto como esta aparezca. El efecto de la presencia de DAM en estadios más tardíos de la enfermedad neurodegenerativa necesita ser estudiado de manera más profunda en modelos de animales que reflejen de forma más exacta o representativa las enfermedades humanas (Deczkowska et al., 2018).

#### **4.5.2 Parkinson**

Se trata de una patología caracterizada por una progresiva degeneración de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra del SNC y patología Lewy. La proteína  $\alpha$ -sinucleína mal plegada se vuelve insoluble y se agrega para formar inclusiones intracelulares en los cuerpos celulares neuronales, denominados cuerpos de Lewy. Todo ello ocurre en un ambiente de inflamación cerebral (Garretti et al., 2019).

Aunque faltan por realizar más estudios, se observa que la microglía activada es prominente en modelos de ratones y humanos con Parkinson. Esta activación incluye la expresión del receptor AXL asociado con la microglía. La activación de la microglía parece que se produce vía TAM dependiente, cuyo mecanismo es desfavorable en ratones. TYRO 3, AXL y MER (TAM) son receptores de tirosina quinasa activados por ligandos endógenos, la proteína S (reguladora de la coagulación) y la proteína GAS6 (estimuladora de la proliferación celular), asociados a la vía de señalización que media la respuesta inflamatoria (Tsou et al., 2014). Su función es el control de la estimulación excesiva y el restablecimiento de la homeostasis mediante la inhibición de los receptores tipo Toll proinflamatorios (Malawista et al., 2016). Inicia rutas de transducción de señales que promueven la activación de las células de la microglía, su supervivencia y la fagocitosis (Yeh et al., 2017).

De manera similar a lo que ocurre en el Alzheimer, la microglía internaliza y degrada la  $\alpha$ -sinucleína para eliminarla, pero un defecto en este proceso lleva a la acumulación de  $\alpha$ -sinucleína extracelular. La microglía se acumula alrededor de los depósitos de alfa-sinucleína y se vuelve proinflamatoria de manera dependiente de los mismos receptores que se unen a la placa  $\beta$ -amiloide, como son CD36 y TLR2 (Kickman et al., 2018)

La activación de la microglía en humanos ha sido demostrada por PET y ha sido comprobado que una activación de microglía dependiente de  $\alpha$ -sinucleína puede estar relacionada con cambios en el microbioma de modelos de animales y humanos (Butovsky y Weiner, 2018).

#### **4.5.3 Esclerosis Lateral Amiotrófica**

La enfermedad de ELA se produce por la mutación de diversos genes como SOD1, lo que genera una pérdida de neuronas motoras. Mediante PET se ha observado que la microglía, expresando marcadores proinflamatorios, se sitúa cerca de las neuronas afectadas. La expresión de las mutaciones de SOD1 en la microglía aceleran la enfermedad instaurada, y la activación de la microglía exacerba la muerte de las neuronas motoras. En esta enfermedad, la expresión de la mutación en SOD1 en la microglía interrumpe la regulación de la enzima NADPH oxidasa, provocando una producción neurotóxica excesiva de superóxido. Esto es detectado por la microglía de la misma forma que detecta placa  $\beta$ -amiloide (Alzheimer) o  $\alpha$ -sinucleína (Parkinson) a través de receptores Toll-like y Scavenger (TLRs y SRs) entre otros, haciéndolo proinflamatorio. Estos descubrimientos sugieren que las dos funciones principales de la microglía alteradas en ELA incluyen la detección de estímulos exógenos y señales de peligro, así como la respuesta del hospedador.

Los estudios sugieren que la microglía cambia su fenotipo durante el progreso de la enfermedad, ya que la microglía aislada de ratones con mutación en SOD1 al comienzo de la enfermedad era neuroprotectora, al contrario que la aislada en el estado final de la enfermedad (Kickman et al., 2018).

#### **4.5.4 Esclerosis múltiple**

Es una enfermedad inflamatoria del SNC en la cual la desmielinización y la neurodegeneración se ha ligado de forma importante a la activación de la microglía. La microglía activada daña los oligodendrocitos a través de diferentes mecanismos incluyendo la secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , la activación fagocítica y la presentación de antígenos vía CMH clase II a células T CD4+. También se causa daño directo a las neuronas debido a la producción por parte de la microglía de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, induciendo disfunción mitocondrial (Correale et al., 2017).

Para demostrar estas afirmaciones de forma experimental se realizan estudios experimentales de encefalomiелitis autoinmune (EAE) en los que se utilizan modelos de ratones con inflamación cerebral para estudiar enfermedades desmielinizantes humanas del SNC. En ellos, se observa que los modelos de ratones con Esclerosis Múltiple presentan una microglía con

fenotipo transcripcional similar a los observados en los modelos de ELA y Alzheimer, el cual podría contribuir a la enfermedad (Krasemann et al., 2017).

En el modelo de ratón de esta patología, la microglía secreta proteasas, citoquinas proinflamatorias (como CCL2), ROS y RNS, y reclutan linfocitos T reactivos causando toxicidad a las neuronas y a los precursores oligodendrocíticos. También contribuye a la cascada inflamatoria la activación de astrocitos (Hickman et al., 2018).

En la Esclerosis Múltiple en humanos, la microglía pierde la expresión del marcador homeostático P2RY12, y adopta un fenotipo proinflamatorio que incluye la expresión de marcadores relacionados con la fagocitosis (CD68 o “macrosialina”), presentadores de antígenos (moléculas MHC de clase I y II y antígeno CD68 activador de linfocitos T) y proteínas relacionadas con la producción de especies reactivas de oxígeno (CYBA) (Butovsky y Weiner, 2018).

#### 4.6 Microglía con fenotipo DAM

Para comprobar si existían patrones comunes o similares en la microglía observada en las distintas patologías anteriores se procedió a analizar el transcriptoma microglial en modelos de ratón tanto en el envejecimiento como en ELA, Alzheimer y Esclerosis Múltiple (Krasemann et al., 2017). En todos estos modelos de patología se encuentran signos comunes que se asocian a neurodegeneración, y es a partir de entonces cuando se comienza a utilizar el término de “fenotipo MGnD” o “fenotipo de microglía neurodegenerativa”, siendo este muy similar a aquel fenotipo DAM encontrado en los modelos de Alzheimer (Keren-Shaul et al., 2017). Este fenotipo se caracteriza por la inducción de genes relacionados con la señalización de ApoE (proinflamación) y la supresión de la señalización de TGF $\beta$  (antiinflamación)(Figura 5). Se observa que, en esta microglía asociada a las respectivas patologías, algunos genes homeostáticos se suprimieron, incluyendo aquellos que codificaban para reguladores de la transcripción Mef2a, Mafk, Sall1 y la proteína 1 de respuesta temprana de crecimiento (Egr1). Además, se incrementó la expresión de genes que codificaban para factores de transcripción como Bhlhe40, Tfec, Ets2 y Atf3 (Krasemann et al., 2017). Otro estudio analizó células mieloides del SNC de ratones con neurodegeneración y se identificó un set de genes co-regulados asociados con la enfermedad neurodegenerativa que fue igualmente observado en cerebros humanos de Alzheimer (Friedman et al., 2018). Muchos de estos genes coinciden con el fenotipo de la microglía MGnD, o microglía DAM, término con el que se la denomina finalmente.

#### 4.6.1 Ruta de señalización TREM2-Apo E

En este momento surge una pregunta principal, que lleva a cuestionarse cómo se regula el perfil de señalización de la microglía en la enfermedad. La microglía en el envejecimiento y en la neurodegeneración cambia su fenotipo y su función, pero se desconocen los mecanismos moleculares responsables de ello (Krasemann et al., 2017). A pesar de ello, cuando en los ensayos ya mencionados con ratones se produce la fagocitosis de neuronas apoptóticas (Butovsky y Weiner, 2018), se observa que el cambio de fenotipo homeostático a microglía DAM es regulado por la activación de TREM2-ApoE vía fosfatidilserina expresada en neuronas apoptóticas (Figura 5).

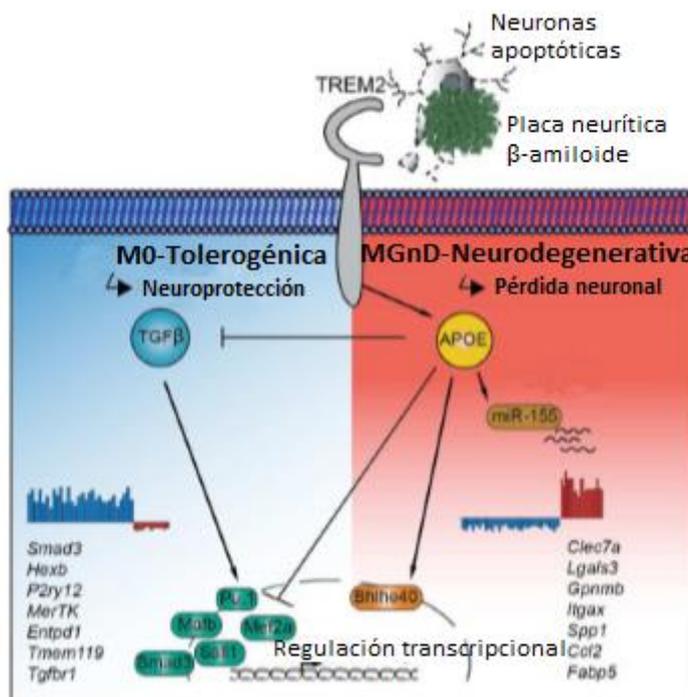


Figura 5. El perfil de la microglía homeostática M0-tolerogénica se convierte en MGnD-neurodegenerativo o DAM. Las neuronas apoptóticas o dañadas (susceptibles de ser fagocitadas por la microglía) expresan fosfatidilserina, que será reconocida por TREM2. Este receptor induce la expresión de la apolipoproteína ApoE, que suprime la expresión de los principales factores de transcripción de la microglía homeostática (Mef2a, Mafk, Sall1, Pu.1) así como la expresión de la señalización TGF-β antiinflamatoria. Se incrementa la producción de miR-155 y con ello la expresión de genes que codificaban para factores de transcripción como Bhlhe40 (marcador neurodegenerativo).

(Adaptación de Krasemann et al., 2017)

Por tanto, TREM2 es una molécula microglial importante, que demuestra que está involucrada en la regulación de las características de la microglía en la enfermedad (Butovsky y Weiner, 2018). TREM2, como se ha mencionado en apartados anteriores, es un receptor de superficie de la microglía que detecta lípidos asociados a daño. Este interactúa con la proteína TYROBP, también conocida como DAP12, para iniciar rutas de transducción de señales que promueven la activación de las células de la microglía, la fagocitosis y la supervivencia de la microglía. (Butovsky y Weiner, 2018). Estudios de TREM2 realizados concluyen que una variante rara del gen que codifica para TREM2 (mutación R47H) multiplicaba por 4 el riesgo del Alzheimer, y lo mismo ocurría para ApoE, el factor genético de riesgo mayor en Alzheimer tardío (Yeh et al., 2017).

Otra enfermedad relacionada con mutaciones y pérdida de función de TREM2 es la enfermedad de Nasu-Hakola (osteodisplasia poliquística pseudomembranosa con leucoencefalopatía), endémica en Finlandia y Japón (Klünemann et al., 2005) Esto se debe a que TREM2 regula la diferenciación de los osteoclastos y la remodelación del hueso.

Mutaciones homocigóticas o deleciones de TREM2 también se relacionan con demencia frontotemporal (Guerreiro et al., 2013).

Variaciones heterocigóticas de TREM2 se han relacionado con casos de demencia frontotemporal, Parkinson y ELA. Sin embargo, todas ellas necesitan todavía ser confirmadas por más estudios, ya que no está claro si las mutaciones heterocigóticas de TREM2 desencadenan más patologías además de Alzheimer (Yeh et al., 2017).

Se estudiaron en modelos de ratones con Alzheimer los efectos del déficit de TREM2 en los estados temprano y avanzado de la enfermedad. El déficit de TREM2 mejoraba la patología amiloide en estados tempranos, pero la empeoraba en estados avanzados, sugiriendo que TREM2 jugaba papeles distintos según el periodo de la enfermedad (Jay et al., 2017).

Se encontró que TREM2 también afectaba al metabolismo de la microglía: pacientes con Alzheimer portadores de variaciones de TREM2 con riesgo o ratones con déficit de este receptor tienen abundantes vesículas autofágicas en su microglía (Ulland et al., 2017). Aunque no está totalmente claro cómo TREM2 regula la señalización fenotípica de la microglía, se sabe que reconoce la fosfatidilserina en la superficie de células apoptóticas o dañadas y que inicia la señalización de ApoE (Krasemann et al., 2017). ApoE es un ligando para TREM2 en la microglía. Este se une a neuronas apoptóticas y aumenta la fagocitosis de neuronas por la microglía mediada por TREM2 (Atagi et al., 2015). ApoE también suprime la expresión de los principales factores de transcripción de la microglía homeostática (Krasemann et al., 2017). Además, la

eliminación genética de ApoE en la microglía MGnD recupera las propiedades homeostáticas de forma celular-autónoma. Esto sugiere que poner como diana genéticamente a TREM2 suprime la ruta ApoE y restaura la homeostasis de la microglía en ratones con Alzheimer y SOD1 (Krasemann et al., 2017). En el modelo tau de neurodegeneración, la eliminación genética de ApoE o TREM2 también detiene la neurodegeneración, demostrando que esta ruta regula negativamente la propiedad homeostática (Shi et al., 2017).

Aunque todo ello pueda llevar a la conclusión de la necesidad de modular TREM2 como tratamiento a largo plazo, se necesita investigación adicional para detectar posibles efectos adversos que puedan surgir de la inhibición de este receptor en otras células mieloides, como los osteoclastos (Yeh et al., 2017)

#### 4.7 Microglía como diana para tratamiento

Como se ha descrito a lo largo de los apartados anteriores, las funciones normales de la microglía incluyen la fagocitosis, la apoptosis o modelado sináptico, la quimiotaxis y la regulación de la neurogénesis e inmunidad del sistema nervioso central. Por esta importancia de la microglía en las funciones cerebrales, el potencial terapéutico de la microglía como diana es muy amplio, incluyendo enfermedades desarrolladas como autismo, enfermedades adquiridas como esclerosis múltiple y enfermedades genéticas y neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson y ELA. Como la microglía son células residentes del sistema nervioso que son independientes de las células mieloides periféricas (las cuales migran al cerebro desde la periferia), para actuar sobre la microglía como diana se debe actuar específicamente sobre el sistema nervioso central (Butovsky y Weiner, 2018).

De forma general, el objetivo de la terapia dirigida a la microglía sería mantener la función homeostática de esta y restringir o inhibir la microglía inflamatoria o promotora de enfermedad, como aquella que muestra perfil transcripcional DAM. Así, lo que se pensaría adecuado sería diseñar moléculas agonistas de aquellos ligandos o receptores endógenos que favorecen la señal homeostática y antagonizar aquellas que deriven a DAM.

A medida que se amplían las bases del conocimiento sobre este tema comienzan a emerger una serie de dianas moleculares microgliales específicas. Aquellas dianas cuya función se debería potenciar son miR-124, TGF- $\beta$ , MERKT, CX3CR1, P2RY12, MEF2C, SALL1 y MAFB. Por el contrario, las dianas terapéuticas a antagonizar incluyen TREM2, ApoE4, AXL, CSF1R, complemento C3, miR-155 y SPP1. (Butovsky y Weiner, 2018). Como ya hemos comentado, algunas moléculas como TREM2 pueden ser beneficiosas o perjudiciales dependiendo de la

fase de la enfermedad, algo que hay que tener en cuenta a la hora de utilizarlas como objetivo en humanos.

Estudios recientes que han usado un anticuerpo anti-CSF1R y PLX3397 para bloquear CSF1R sugieren que la inhibición de este factor causa la disminución de la microglía (Elmore et al., 2014). El tratamiento con PLX5622, que también dirige a la diana CSF1R, prevenía la asociación de la microglía con las placas amiloides y mejoraba la cognición en el modelo de ratón 3xTg-AD con Alzheimer (Dagher et al., 2015). De forma similar, un inhibidor oral de la tirosina quinasa (GW2580) inhibía CSF1R en el modelo del ratón APP/PA1 con Alzheimer, lo que reducía la proliferación de la microglía y el perfil inflamatorio de esta (Olmos-Alonso et al., 2016). La elección de CSF1R como diana farmacológica en este estudio también mejoró la cognición y previno la degeneración sináptica. Por lo tanto, estos estudios apoyan el potencial de las estrategias inhibitoras de CSF1R como tratamiento del Alzheimer.

Los receptores de tirosina quinasa TAM (Tyro3, Axl y Mer) están involucrados en múltiples aspectos de la fisiología de la microglía. Como hemos descrito anteriormente, estos receptores de tirosina quinasa se encargan de regular las funciones de esta y por lo tanto están relacionados con la exhibición del fenotipo DAM, lo que los convierte en potenciales dianas para la intervención terapéutica. De forma experimental se ha demostrado que los animales con déficit de Mer y Axl acumulan células apoptóticas (Fourgeaud et al., 2016)

#### 4.7.1 Moléculas utilizadas

Para usar la microglía como diana serán necesarias moléculas fáciles de sintetizar que puedan actuar sobre su superficie, siendo los más comunes los anticuerpos específicos. Estos se unirán específicamente a moléculas presentes en la microglía para bloquearla.

Los investigadores se encuentran actualmente desarrollando un anticuerpo contra ApoE4 (Liao et al., 2014), así como uno contra TREM2 (Piccio et al., 2007).

Otro acercamiento incluye microRNAs. miR-155 se ha asociado con la microglía inflamatoria y es un conductor principal de la inflamación en la inmunidad innata. Inhibir selectivamente miR-155 en la microglía ha demostrado ser beneficioso para frenar la patología en modelos de ELA (Koval et al., 2013) y está siendo perseguido actualmente como posible estrategia terapéutica. De acuerdo con esto, en la microglía DAM de ratones ApoE+, la expresión de miR-155 fue suprimida (Krasemann et al., 2017). Otros microRNAs tienen función antiinflamatoria intrínseca. Por ejemplo, se ha demostrado que favorecer la expresión de miR-124 es beneficioso en modelos de Esclerosis Múltiple (Ponomarev et al., 2011).

Además de los acercamientos farmacológicos clásicos, también hay otros métodos fisiológicos que conducen a cambios en la microglía. Un ejemplo surge de un informe que afirma que el “enriquecimiento ambiental” reduce los niveles de deposición amiloide en modelo de ratón con Alzheimer (Lazarov et al., 2005). Por lo tanto, la modificación del ambiente o la conducta podría tener efectos beneficiosos en la función cerebral mediante la afectación de la microglía.

Por último, el microbioma juega un papel central en la salud y en la enfermedad. El microbioma del hospedador controla la maduración y la función de la microglía (Erny et al., 2015). Los animales que crecen en un ambiente libre de gérmenes o ratones tratados con antibióticos de amplio espectro desarrollan microglía disfuncional, un efecto que se puede mejorar con ácidos grasos de cadena corta. Debido a esto, es posible que la modificación o modulación del microbioma pueda tratar enfermedades neurodegenerativas a través de sus efectos en la microglía. Por ello se encuentran en proceso diversos estudios del microbioma en enfermedades neurodegenerativas como Parkinson (Sampson et al., 2016), Alzheimer (Vogt et al., 2017) y Esclerosis Múltiple (Jangi et al., 2016).

#### 4.7.2 Biomarcadores

Para entender la función de la microglía en la enfermedad y nuestra habilidad para tratarla como diana u objetivo, es requerimiento fundamental ser capaz de medir la función de la microglía a través de biomarcadores. Los biomarcadores más ampliamente utilizados en enfermedades neurodegenerativas están relacionados con técnicas de imagen y por ello dichas técnicas están siendo usadas para comprobar el efecto de tratamientos en la microglía (Politis et al., 2012). Desarrollar tratamientos para las enfermedades como Esclerosis Múltiple ha requerido que la terapia afecte a tejidos o moléculas que puedan ser medidos u observados a través de las imágenes obtenidas mediante la técnica de Resonancia Magnética Nuclear (Bakshi et al., 2008). En este caso, la extensión y el grado de tejido dañado se hace visible en las imágenes mediante la observación de las lesiones o de la concentración de metabolitos asociados a la atrofia localizada en el SNC. En Alzheimer, la medida de péptido  $\beta$  amiloide y tau son usadas como medidas de eficacia de la terapia (Johnson et al., 2012). La identificación de nuevos marcadores microgliales que están ligados a estados asociados a homeostasis o enfermedad puede presentar una forma más clara de evaluar la microglía en la enfermedad y el efecto de la terapia. Otros biomarcadores para medir la función de la microglía pueden estar presentes en el fluido cerebroespinal como es el ejemplo de TREM2 soluble, cuyos niveles aumentan con el desarrollo del Alzheimer (Brendel et al., 2017).

## 5. CONCLUSIONES

Los estudios genéticos demuestran que el sistema de inmunidad innata juega un papel clave en la patogenia de las distintas enfermedades neurodegenerativas, y por ello, la caracterización molecular de la microglía asociada a homeostasis y enfermedad proporciona una oportunidad para entender y tratar enfermedades humanas del sistema nervioso. Sin embargo, tras los ensayos realizados, aunque se conocen las vías que regulan las firmas fenotípicas de la microglía, la distinción entre homeostasis y enfermedad no es exacta, y siguen existiendo moléculas como TREM2 que, aunque tienen una alta tasa de expresión en microglía activada asociada a enfermedad, también contribuyen beneficiosamente a la alteración del desarrollo de la patología. Es por ello por lo que no se conoce de forma exacta el impacto que tiene la microglía asociada a enfermedad en el desarrollo de la patología.

Además, es necesario ampliar los estudios realizados en modelos de ratones a estudios en pacientes mediante modelos celulares de células humanas in vitro, así como tecnologías para la imagen y el análisis in vivo. Esto permitirá el desarrollo de una terapia farmacológica dirigida que module, favoreciendo la activación o inhibiendo, las principales moléculas que forman parte de la ruta neurodegenerativa, restaurando el estado de homeostasis del sistema nervioso central, frenando con ello el desarrollo de la enfermedad. Aunque aún se precise de una búsqueda amplia en este campo, los datos disponibles hasta el momento han supuesto una base indispensable en el conocimiento de la patogenia de la patología neurodegenerativa, a partir del cual continuar con la investigación.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Alianza Española de Enfermedades Neurodegenerativas. Estudio sobre las enfermedades neurodegenerativas en España y su impacto económico y social. Madrid: Informe de Neuroalianza con Universidad Complutense de Madrid; 2016.

Atagi Y, Liu CC, Painter MM, Chen XF, Verbeeck C, Zheng H, et al. Apolipoprotein E is a ligand for triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2). *J. Biol. Chem.* 2015; 290(43): 26043-26050

Bakshi R, Thompson AJ, Rocca MA, Pelletier D, Dousset V, Barkhof F, et al. MRI in multiple sclerosis: current status and future prospects. *Lancet Neurol.* 2008; 7(7): 615-625

Biber K, Neumann H, Inoue K, Boddeke H.W.G.M. Neuronal 'On' and 'Off' signals control microglia. *Trends in Neurosciences.* 2007; 30(11): 596-602

Brendel M, Kleinberger G, Probst F, Jaworska A, Overhoff F, Blume T, et al. Increase of TREM2 during aging of an Alzheimer's disease mouse model is paralleled by microglial activation and amyloidosis. *Front. Aging Neurosci.* 2017; 9(1): 1-13

Brown GC, Vilalta A. How microglia kill neurons. *Brain Research.* 2015; 1628(9): 288-297

Butovsky O, Weiner HL. Microglial signatures and their role in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience.* 2018; 19(10): 622-635

Correale J, Gaitán MI, Ysraelit MC, Fiol MP. Progressive multiple sclerosis: from pathogenic mechanisms to treatment. *Brain.* 2017; 140(3): 527-546

Dagher NN, Najafi AR, Kayala KMN, Elmore MRP, White TE, Medeiros R, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor inhibition prevents microglial plaque association and improves cognition in 3xTg-AD mice. *Journal of Neuroinflammation.* 2015; 12(1): 1-14

Deczkowska A, Keren-Shaul H, Weiner A, Colonna M, Schwartz M, Amit I. Disease-Associated Microglia: A Universal Immune Sensor of Neurodegeneration. *Cell.* 2018; 173(5): 1073-1081

Dionisio-Santos DA, Olschowka JA, O'Banion MK. Exploiting microglial and peripheral immune cell crosstalk to treat Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation.* 2019; 16(1): 1-13

Doens D, Fernández PL. Microglia receptors and their implications in the response to amyloid  $\beta$  for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neuroinflammation.* 2014; 11(3): 1-14

Elmore MRP, Najafi AR, Koike MA, Nazih N, Spangenberg ER, Rice RA, et al. CSF1 receptor signaling is necessary for microglia viability, which unmasks a cell that rapidly repopulates the microglia-depleted adult brain. *Neuron*. 2015; 82(2): 380-397

Erny D, Lena Hrab de Angelis A, Jaitin D, Wieghofer P, David E, Keren-Shaul H, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat. Neurosci*. 2017; 18(7): 965-977

Fourgeaud L, Través PG, Tufail Y, Leal-bailey H, Erin D, Burrola PG et al. TAM receptors regulate multiple features of microglial physiology. *Nature*. 2016; 532(4): 240-244

Friedman BA, Srinivasan K, Ayalon G, Meilandt WJ, Lin H, Huntley MA, et al. Diverse Brain Myeloid Expression Profiles Reveal Distinct Microglial Activation States and Aspects of Alzheimer's Disease Not Evident in Mouse Models. *Cell Rep*. 2018; 22(3): 832-847

Garretti F, Agalliu D, Lindestam Arlehamn CS, Sette A, Sulzer D. Autoimmunity in Parkinson's Disease: The Role of  $\alpha$ -Synuclein-Specific T Cells. *Frontiers in immunology*. 2019; 10(2): 1-12

Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Mehler MF. Fate map analysis reveals that adult mice derive from primitive macrophages. 2010; 330(6005): 841-845

Greter M, Lelios I, Pelczar P, Hoeffel G, Price J, Leboeuf M, et al. Stroma-Derived Interleukin-34 Controls the Development and Maintenance of Langerhans Cells and the Maintenance of Microglia. *Immunity*. 2012; 37(6): 1050-1060

Guerreiro RJ, Lohmann E, Brás JM, Gibbs RJ, Rohrer JD, Gurunlian N, et al. Using Exome Sequencing to Reveal Mutations in TREM2 Presenting as a Frontotemporal Dementia-like Syndrome Without Bone Involvement. *JAMA Neurol*. 2013; 70(1): 78-84

Hagemeyer N, Hanft KM, Akritidou MA, Unger N, Park ES, Stanley ER, et al. Microglia contribute to normal myelinogenesis and to oligodendrocyte progenitor maintenance during adulthood. *Acta Neuropathologica*. 2017; 134(3): 441-458

Hansen D, Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *Journal of Cell Biology*. 2017; 217(2): 459-472

Hernández Lopez JC, Urcuqui Inchima S. Activación y regulación del inflammasoma NLRP3 en las enfermedades infecciosas. *Iatreia*. 2012; 25(4): 380-390

Hickman S, Izzy S, Sen P, Morsett L, El Khoury J. Microglia in neurodegeneration. *Nature Neuroscience*. 2018; 21(10): 1359-1369

Hoek RM, Ruuls SR, Murphy CA, Wright GJ, Goddard R, Zurawski SM et al. Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200). *Science*. 2000; 290(12): 1768-1771

Holtman I, Skola D, Glass CK. Transcriptional control of microglia phenotypes in health and disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017; 127(9): 3220-3229

Hoshiko M, Arnoux I, Avignone E, Yamamoto N, Audinat E. Deficiency of the Microglial Receptor CX3CR1 Impairs Postnatal Functional Development of Thalamocortical Synapses in the Barrel Cortex. *Journal of Neuroscience*. 2012; 32(43): 15106-15111

Inoue K. Microglial activation by purines and pyrimidines. *Glia*. 2002; 40(2); 156-163

Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, Von Glehn F, Yan R, et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat. Commun*. 2016; 7(5): 1-11

Jay TR, Hirsch AM, Broihier ML, Miller CM, Neilson LE, Ransohoff RM, et al. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J. Neurosci*. 2017; 37(3); 637-647

Johnson KA, Fox NC, Sperling RA, Klunk WE. Brain Imaging in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2012; 2

Kazuki T, Hong-Duck K, Jing-Ji J, J.Adam M, Ling L, Ken-ichiro F. Role of toll-like receptor signalling in A $\beta$  uptake and clearance. *Brain*. 2008; 129(11): 3006-3019

Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, Matcovitch-Natan O, Dvir-Szternfeld R, Ulland TK et al. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell*. 2017; 169(7): 1276-1290

Kierdorf K, Prinz M. Factors regulating microglia activation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2013; 7(4): 1-8

Klünemann HH, Ridha BH, Magy L, Wherrett JR, Hemelsoet DM, Keen RW, et al. The genetic causes of basal ganglia calcification, dementia, and bone cysts DAP12 and TREM2. *Neurology*. 2005; 64(9):1502-9

Koval ED, Shaner C, Zhang P, Du Maine X, Fischer K, Tay J, et al. Method for widespread microRNA-155 inhibition prolongs survival in ALS-model mice. *Hum. Mol. Genet*. 2013; 22(20): 4127-4135

Krasemann S, Madore C, Cialic R, Baufeld C, Fatimy RE, Beckers L, et al. The TREM2-APOE pathway drives the transcriptional phenotype of dysfunctional microglia in neurodegenerative diseases. *Immunity*. 2017; 47(3): 566-581

Lazarov O, Robinson J, Tang YP, Hairston IS, Korade-Mirnic Z, Lee VMY, et al. Environmental enrichment reduces A $\beta$  levels and amyloid deposition in transgenic mice. *Cell*. 2005; 120(5): 701-713

Liao F, Hori Y, Hudry E, Bauer AQ, Jiang H, Mahan TE et al. Anti-ApoE Antibody Given after Plaque Onset Decreases Accumulation and Improves Brain Function in a Mouse Model of Amyloidosis. *Journal of Neuroscience*. 2014; 34(21): 7281-7292

Malawista A, Wang X, Trentalange M, Allore HG, Montgomery RR. Coordinated expression of tyro3, axl, and mer receptors in macrophage ontogeny. *Macrophage (Houst)*. 2016; 3(9): 1-8

Olmos-Alonso A, Schetters STT, Sri S, Askew K, Mancuso R, Vargas-Caballero M, et al. Pharmacological targeting of CSF1R inhibits microglial proliferation and prevents the progression of Alzheimer's-like pathology. *Brain*. 2016; 139(3): 891-907

Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, Maggi L, Scianni M, Panzanelli P et al. Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development. *Science*. 2014; 1456(2011): 10-13

Piccio L, Buonsanti C, Mariani M, Cella M, Gilfillan S, Cross AH et al. Blockade of TREM-2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *European Journal of Immunology*. 2007; 37(5): 1290-1301

Politis M, Su P, Piccini P. Imaging of microglia in patients with neurodegenerative disorders. *Front. Pharmacol*. 2012; 3(5): 1-10

Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, Krichevsky AM, Weiner HL. MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- $\alpha$ -PU.1 pathway. *Nat. Med*. 2011; 17(1): 64-70

Salter MW, Stevens B. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nature Medicine*. 2017; 23(9): 1018-1027

Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*. 2016; 167(6): 1469-1480

Shen X, Venero JL, Joseph B, Burguillos MA. Caspases orchestrate microglia instrumental functions. *Progress in Neurobiology*. 2018; 171(9): 50-71

Shi Y, Yamada K, Liddel SA, Smith ST, Zhao L, Luo W, et al. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature*. 2017; 549 (7673): 523-527

Song M, Jin JJ, Lim JE, Kou J, Pattanayak A, Rehman JA, et al. TLR4 mutation reduces microglial activation, increases A $\beta$  deposits and exacerbates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*. 2011; 8 (1): 1-92

Tsou W, Nguyen KN, Calarese DA, Garforth SJ, Antes AL, Smirnov SV, et al. Receptor Tyrosine Kinases, TYRO3, AXL, and MER, Demonstrate Distinct Patterns and Complex Regulation of Ligand-induced Activation. *J Biol Chem*. 2014; 289(37): 25750-25763

Ulland TK, Song WM, Huang SCC, Ulrich JD, Sergushichev A, Beatty WL, et al. TREM2 maintains microglial metabolic fitness in Alzheimer's disease. *Cell*. 2017; 170(4): 649-663

Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientif. Rep*. 2017; 7(1): 1-11

Walker DG, Lue LF. Immune phenotypes of microglia in human neurodegenerative disease: Challenges to detecting microglial polarization in human brains. *Alzheimer's Research and Therapy*. 2015; 7(1): 1-9

Wang Y, Cella M, Mallinson K, Ulrich JD, Young KL, Robinette ML. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model. *Cell*. 2015; 160(6): 1061-1071

Yeh FL, Hansen DV, Sheng M. TREM2, Microglia, and Neurodegenerative Diseases. *Trends in Molecular Medicine*. 2017; 26(6): 512-533