

Patogenia de la lesión medular y mecanismos de reparación inducidos por las células de la glía envolvente olfatoria

Lucía Botero, Rosa Margarita Gómez, Orlando Chaparro

Introducción. La lesión medular es un evento catastrófico, cuyas consecuencias persisten durante toda la vida del paciente. La investigación en tratamiento se ha basado principalmente en el desarrollo de terapias que reduzcan la discapacidad, pero desde los años noventa hay un avance significativo y se han probado varios trasplantes celulares en modelos animales de lesión medular, células de Schwann, astrocitos y células de la glía envolvente olfatoria (CGEO).

Objetivo. Hacer un recuento detallado de la patogenia de la lesión medular primaria y secundaria y de los mecanismos por los cuales las CGEO inducirían sus posibles efectos regenerativos descritos en la bibliografía.

Desarrollo. Después del traumatismo, la lesión se desarrolla en dos fases, la primaria se caracteriza por las lesiones de compresión y la secundaria se produce por una serie de factores que se dan en paralelo y que incluyen factores vasculares, celulares, moleculares y formación de cicatriz glial. La mayoría de los modelos de lesión medular y trasplante con CGEO han comunicado recuperación funcional, remielinización y regeneración axonal. Estas células ejercen su acción de manera indirecta a través de la producción de factores de crecimiento y de manera directa induciendo regeneración neuronal, axonal y remielinización.

Conclusiones. Las CGEO son una opción terapéutica en pacientes con lesión medular debido a que inducen de modo directo o indirecto regeneración neuronal, axonal, remielinización de axones, disminución de cicatriz glial y otros efectos que conducen a la recuperación funcional.

Palabras clave. Células de la glía envolvente olfatoria. Lesión medular. Regeneración axonal. Regeneración neuronal. Remielinización. Trasplante celular.

Introducción

La lesión medular es un evento catastrófico, cuyas consecuencias persisten durante toda la vida del paciente y afectan de varias formas no sólo al paciente sino a los miembros de la familia y a la sociedad. Se ha comunicado en varios países que la lesión medular aguda y crónica ocurre con una incidencia de 13-40 personas por millón [1,2]. A pesar de los programas preventivos, no hay evidencia de que la casuística haya disminuido. Así es como en los Estados Unidos se comunicaban en 1980 aproximadamente 906 casos por millón de habitantes [3] y, diez años después, 721 por millón [4] con una prevalencia estimada de 276.281 personas con lesión medular para el año 2014 [1].

Por años, la investigación en el tratamiento para la lesión medular se basó principalmente en el desarrollo de terapias que redujeran la discapacidad [5], sin embargo, desde los años noventa ha habido un avance significativo y se han probado varios trasplantes celulares en modelos animales de lesión me-

dular, como trasplantes de nervios intercostales [6], de células de Schwann [7-9], astrocitos y finalmente con células de la glía envolvente olfatoria (CGEO). Los trabajos con estas últimas se iniciaron a partir del estudio de Ramón-Cueto y Nieto-Sampedro sobre la regeneración de raíces dorsales de los nervios [10] y prosiguieron con los de reparación del haz corticospinal de Li et al [11], los de remielinización de Imaizumi et al [12] y, más adelante, los de Ramón-Cueto et al, quienes comunicaron recuperación funcional y regeneración axonal, después de la sección medular completa y el trasplante con CGEO [13]. A partir de estos estudios, muchos grupos han evaluado terapias potenciales, tanto en lesiones completas o parciales como en modelos de contusión medular, y han comunicado recuperación funcional, remielinización y regeneración axonal. El objetivo de esta revisión es hacer un recuento detallado de la patogenia de la lesión medular primaria y secundaria y de los mecanismos por los cuales las CGEO inducirían sus posibles efectos regenerativos descritos en la bibliografía.

Grupo de Neurociencias; Facultad de Medicina; Universidad de la Sabana (R.M. Gómez). Laboratorio de Patología Veterinaria; Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia (L. Botero). Departamento de Ciencias Fisiológicas; Facultad de Medicina (O. Chaparro); Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Correspondencia:

Prof. Lucía Botero Espinosa. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Carrera 45, n.º 26-85. Bogotá, Colombia.

E-mail:

lbotero@unal.edu.co

Aceptado tras revisión externa:

18.04.13.

Cómo citar este artículo:

Botero L, Gómez RM, Chaparro O. Patogenia de la lesión medular y mecanismos de reparación inducidos por las células de la glía envolvente olfatoria. Rev Neurol 2013; 56: 521-31.

© 2013 Revista de Neurología

Mecanismos de daño en la lesión medular

La lesión medular provoca varios cambios moleculares y celulares que conducen a un daño neurológico permanente y que se traducen en la alteración de las funciones. Esta lesión sucede en dos eventos patológicos: la lesión primaria y la secundaria, que llevan finalmente a la muerte neuronal y glial y a la pérdida de la función [14,15].

Lesión medular primaria

El traumatismo mecánico conduce a una lesión tisular de magnitud variable, que incluye componentes neurales centrales y periféricos, vasos sanguíneos, disrupción axonal y ruptura de las membranas celulares, con liberación de electrolitos, metabolitos y lisozimas de los tejidos dañados. La médula espinal tiende a ocupar todo el diámetro del canal espinal, al ampliar y comprimir el sitio de la lesión y aumentar el edema y la presión intersticial, que disminuye aún más el flujo sanguíneo medular y genera hipoxia, lo que produce la llamada zona de penumbra [16,17], observándose microhemorragias en el espacio perivascular de arteriolas, venas y vénulas en las columnas de la sustancia gris, que se extienden de modo axial y radial en pocas horas. También hay presencia de células inflamatorias, en especial neutrófilos, que pueden verse a partir de los tres minutos poslesión [18,19].

El edema, responsable de graves alteraciones celulares, se presenta a partir de los 30 s de la lesión, se incrementa entre los dos y seis minutos y continúa incrementándose hasta 15 días después [20]. Se ha comprobado que entre una y cuatro horas poslesión, el edema es mayor en la sustancia gris (127%), comparada con la sustancia blanca (24%) [21]. Los cambios microvasculares iniciales (microhemorragias y edema) llevan a una demielinización y degeneración neuronal, glial y axonal, con hinchamiento neuronal y glial y vesiculización de la mielina, disolución granular del axoplasma, seguida de daño a las membranas celulares y vacuolización mitocondrial; estas lesiones pueden verse entre 15 minutos y dos horas después del traumatismo [19,20,22,23].

Lesión medular secundaria

El proceso degenerativo celular no se termina inmediatamente después del traumatismo ni se restringe al sitio lesionado. Un fenómeno destructivo más insidioso extiende la lesión en el tiempo y el espacio, la lesión secundaria o tardía, cuya gravedad depende de una serie de factores que se producen

en cascada y que involucran factores vasculares, celulares y moleculares, que son los que llevan por último a la degeneración y a la muerte neuronal, perpetúan el daño tisular e impiden la regeneración [24,25].

Factores vasculares

Los mecanismos vasculares pueden ser los responsables en gran parte por la progresión del daño posttraumático [26]. La isquemia postraumática en el sitio de la lesión y en áreas adyacentes y la extensión de la misma se ha correlacionado directamente con la gravedad y se han propuesto dos mecanismos posibles: el vasoespasmo y la obliteración de vasos sanguíneos por trombosis o agregación plaquetaria [27]. Anthes et al demostraron que después de la compresión (C8-D1), únicamente la microcirculación (arteriolas, capilares y vénulas) se encontraba afectada y las arteriolas sulcales dentro de la fisura ventral media presentaban características morfológicas de vasoespasmo [17]. Koyanagi et al, utilizando microscopía electrónica de barrido tras modelado vascular por corrosión en lesión medular en un modelo en rata, observaron un grave daño progresivo en las arterias sulcales con oclusión y obstrucción de las ramas y presencia de vasoespasmo en algunas de las ramas intramedulares [28]. Algunos de los mecanismos que inducen el vasoespasmo incluyen factores neurogénicos (adrenalina y noradrenalina) y la producción de factores como sintasa de óxido nítrico (NOS), endotelina 1 (ET1) y calicreínas por parte de las células endoteliales y de otras células en el microambiente local [29,30]. La isquemia viene seguida de una fase de hiperemia (reperusión) que aumenta el daño celular debido a la liberación de especies reactivas de oxígeno (ERO) [31]. El edema se agrava en la fase secundaria [25, 30,31] y se ve potenciado por el aumento de la presión hidrostática, la compresión por estructuras adyacentes y el vasoespasmo [30-32], así como por moléculas como la ET1, óxido nítrico (ON), calicreínas y ERO [30,33].

Factores celulares y moleculares

En la lesión medular, el influjo de los leucocitos desempeña un papel clave en el daño secundario [34]. En la rata, los neutrófilos polimorfonucleares son las primeras células que aparecen en el sitio de la lesión entre cuatro y seis horas después de la lesión, alcanzan su pico entre las 12 y 24 horas y desaparecen entre los cinco y diez días [35,36]. También se ha propuesto la existencia de una segunda fase inflamatoria prolongada, que se inicia en el día 14 poslesión y persiste hasta el día 180 poslesión con un pico en el día 60 tanto de polimorfonuclea-

res como de microglia, lo que sugiere una clara división entre la fase aguda y crónica de la reacción inflamatoria y muestra que los polimorfonucleares persisten por meses y potencian el daño de largo plazo [37,38].

Pineau et al propusieron a los astrocitos como las células responsables de la rápida síntesis de las quimiocinas MCP-1 y MIP2 (proteína quimiotáctica de monocitos 1 y proteína inflamatoria de monocitos 2) en modelos de lesión medular, causantes del rápido reclutamiento de leucocitos, principalmente polimorfonucleares y MØ hematógenos [39]. Estas células ejercen el daño a través de la producción de citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8), interferón γ (IFN- γ) y ERO [40,41].

Los MØ que se encuentran en el sitio de la lesión se derivan tanto de la microglía (MØ residentes) como de MØ hematógenos; la bibliografía se refiere a ellos indistintamente como MØ/microglía. Sin embargo, Popovich et al han postulado que puede haber una contribución desigual de estas subpoblaciones de MØ en la lesión y que de ello puede depender la extensión y el curso de la lesión. En el inicio del daño, se encuentran MØ derivados de microglía y aparecen con posterioridad MØ hematógenos; mientras la microglía está distribuida en toda la lesión, los MØ hematógenos infiltran exclusivamente la sustancia gris y los MØ residentes son los que inducen un mayor daño [42]. Los efectos deletéreos de estas células consisten sobre todo en la producción de citocinas proinflamatorias, proteasas, ERO y otros factores citotóxicos [43,44].

Aunque hay mayor evidencia de que los MØ/microglía contribuyen de manera negativa al daño secundario, otros estudios han comunicado también un papel protector a través de la señalización por el TNF α que es requerida para la correcta remielinización en modelos de demielinización inducida por cuprizona [45,46]. También se ha descrito que la activación *in vitro* del receptor TREM (*triggering receptor expressed on myeloid cells*) expresado en microglía incrementa la fagocitosis de las neuronas apoptóticas y reduce la expresión de las citocinas proinflamatorias como la TNF α y la sintasa de óxido nítrico (NOS) [47]. Otros factores producidos por estas células también tienen efectos neuroprotectivos e incluyen el factor de crecimiento transformante beta (TGF β) y los factores estimulantes de colonia de MØ y de granulocitos (MCSF y GMCSF) [45,48].

Estas diferencias en el perfil de activación de los MØ que los conduce a tener propiedades proinflamatorias o antiinflamatorias se denominan en la

actualidad como polarización de MØ (45). Los MØ activados por la vía del repertorio de citocinas T *helper1* (TH1) e IFN- γ , que producen citocinas (IL12-IL23, IL-1 β y TNF α), ERO e incremento en la actividad fagocítica se han denominado M1 o MØ activación clásica. En contraste, el repertorio activado por citocinas T *helper2* (TH2) como IL-4 inhiben la producción de citocinas (TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-12 y CXCL10) y se han denominado M2 o MØ activación alternativa [49,50].

En un modelo de lesión medular en ratón, se encontró que los cambios en la expresión de genes podrían predecir el fenotipo de los MØ en la médula espinal; los MØ M1, que expresaban CD86 y CD16/32, eran más numerosos y persistían por más tiempo en comparación con los M2 (que expresaban moléculas CD206 y Arg1), que tenían una presencia menor y transitoria. También sugirieron que factores asociados al microambiente tisular de la lesión (como citocinas, ERO o quemocinas) influirían en la regulación a la baja del fenotipo M2 [51]. Estos datos podrían tener importantes implicaciones clínicas con la posibilidad de desarrollar terapias para inducir la presentación de fenotipos de MØ beneficiosos para la regeneración tisular y axonal.

En lo que se refiere a la respuesta linfoidea, se sabe que los linfocitos B (LB) infiltran la médula espinal en horas y persisten en la lesión más de una semana después de la lesión. Estas células se activan tras el traumatismo y producen anticuerpos patogénicos que causan neuroinflamación, muerte celular y disfunción neurológica. Estas células generan autoanticuerpos que están presentes en grandes cantidades en el líquido cefalorraquídeo y que se han encontrado depositados en conjunto con el componente C1q del complemento (C1q) relacionados con áreas de patología axonal y demielinización [52,53].

Con respecto a la respuesta de los linfocitos T, se ha comunicado que ratones transgénicos que carecían de linfocitos T maduros (RAG2^{-/-}), sometidos a compresión medular, tuvieron mejor recuperación motora –medida con la escala motora de Basso-Beattie-Bresnahan (BBB)– que los animales control y que esta recuperación estuvo asociada a la reinervación catecolaminérgica y colinérgica y a un recrecimiento axonal y remielinización en el sitio lesionado. Adicionalmente, el número de MØ disminuyó en los ratones RAG2^{-/-} comparado con los controles, y concluyeron que la respuesta de los linfocitos T restringe la recuperación funcional en la lesión medular por el aumento en el número de MØ y la reducción de la regeneración y la remielinización axonal [54].

Los polimorfonucleares, los MØ al igual que las neuronas y células de glía, sintetizan citocinas proinflamatorias (TNF α e IL-1 β) como parte de la comunicación intercelular normal, sin embargo esta síntesis incrementada y mantenida agrava la lesión tisular. La IL-1 β se mantiene elevada desde los 15 minutos poslesión y contribuye al incremento del tamaño de la cavidad a través de la activación de MØ/microglía y células endoteliales para la producción de otras citocinas y ERO [55,56]. La sobreexpresión de TNF α (producida por MØ astrocitos y linfocitos T) en ratones transgénicos lleva a la muerte neuronal y a la demielinización espontánea debido a la muerte de oligodendrocitos y daño de la mielina [43,44]. Varios trabajos que bloquean la actividad del TNF α han demostrado que esta citocina es responsable en gran medida del daño neuronal y axonal. Genovese et al usaron un modelo de lesión medular en ratones *knockout* para el receptor 1 del TNF α (TNFR1) y describieron recuperación funcional y reducción de la apoptosis y de la pérdida tisular [57]. Otros investigadores han utilizado antagonistas de los receptores para TNF (TNFR1 y TNFR2) y comunicaron también recuperación motora con mejores puntuaciones en la escala BBB en los individuos tratados, así como un aumento en el número de fibras mielinadas, disminución en el número de neuronas y de oligodendrocitos apoptóticos, lo que confirma el involucramiento de esta citocina en la muerte neuronal y la demielinización [58,59].

Se ha comprobado también que la IL-6 y el factor inhibidor de la leucemia (LIF) participan en el daño. La IL-6 promueve la activación e infiltración de MØ/microglía, y la sobreexpresión de genes de IL-6, la cual empeora el daño medular y tiene un papel en la infiltración de MØ hematógenos, su bloqueo disminuye el daño tisular, los niveles de Nogo-A (inhibidor del crecimiento axonal) y mejora la recuperación funcional [60,61]. El LIF se relaciona en especial con una disminución de los oligodendrocitos y la baja mielinización [62].

Otras moléculas claves en la lesión secundaria son las ERO, que exacerban el daño original y lo inician en áreas no afectadas. Los neutrófilos, y en menor medida los monocitos y los MØ activados, generan grandes cantidades de anión superóxido (O $^{\cdot-}$) por la vía de la NADPH oxidasa, que resulta posteriormente en la producción de peróxido de hidrógeno (H $_2$ O $_2$) y radicales hidroxilo (OH $^{\cdot-}$), también se puede producir hipoclorito e ión clorato. Adicionalmente, los leucocitos son fuente de iONS que lleva a la producción de ON y peroxinitrito [34,63,64]. Todos estos radicales reaccionan con los

ácidos grasos poliinsaturados, lo que resulta en peroxidación, muerte neuronal y de oligodendrocitos. Además, actúan como quimiocinas, al agravar la reacción inflamatoria y el daño celular [63].

Cicatriz glial. Astrocitos reactivos e inhibidores de la regeneración en el sistema nervioso central

La cicatriz glial es el principal obstáculo para la restitución de las conexiones dañadas. Los astrocitos reactivos son la marca patológica de la lesión medular, están caracterizados por hipertrofia del soma y los procesos celulares e incremento de filamentos intermedios, que pueden detectarse con un incremento en la expresión de la proteína fibrilar glial ácida (GFAP), y también aumentan en número en respuesta a la lesión [65,66]. Sus efectos deletéreos consisten además en la liberación de glutamato, producción de citocinas proinflamatorias y de quimiocinas como CXCL10 y CCL2, EGF (factor de crecimiento endotelial), producción de ERO y de moléculas de matriz extracelular (MME) como el condroitín sulfato proteoglicano NG2 [24,65-70].

En gran parte, la baja capacidad de regeneración axonal en la región de la cicatriz glial se debe a que se producen en el área de la lesión moléculas inhibitorias de la neurogénesis y a la ausencia o disminución de factores neurotróficos. Algunos de los factores inhibidores más comunicados son la glicoproteína asociada a mielina (MAG), la glicoproteína de oligodendrocito-mielina (OMgp) y los inhibidores asociados a mielina (MAI) como el Nogo-A [71] y las moléculas de la matriz extracelular, en especial proteoglicanos de condroitín sulfato, como NG2, versicán, brevican, neurocán, así como fosfocán y cadenas glicosiladas de condroitín [72]. La MAG es una proteína de la superfamilia de las inmunoglobulinas unidoras del ácido siálico que se expresa en oligodendrocitos durante las primeras fases de mielinización axonal y que persiste con distribución estrictamente periaxonal [73]. La OMgp es una glicoproteína que se expresa en neuronas, oligodendrocitos y mielina periaxonal e inhibe la regeneración axonal en la lesión medular [74]. El Nogo es un miembro de la familia de genes *Reticulo* (*RTN1*, *RTN2*, *RTN3* y *RTN4*); el gen *RTN4* codifica para tres diferentes proteínas, que son las Nogo-A, B y C. La Nogo-A está preferentemente expresada en oligodendrocitos, aunque se ha encontrado en neuronas y células de Schwann [73]. Estos tres inhibidores interactúan con receptores como los NgR1, LINGO y TROY en el axón, lo que resulta en el reclutamiento de p75 y la activación de la vía Rho, así se inhibe la regeneración axonal [75,76].

Otros inhibidores del crecimiento axonal son las semaforinas (Sem), una extensa familia de proteínas celulares secretadas y asociadas a membrana, que están involucradas en la guía, la dirección y la fasciculación de axones y actúan como repelentes de axones por unión al complejo receptor neuropilina-plexina [77]. La Sem3A está presente en el cerebro y la médula espinal en el adulto, posterior a la lesión medular hay una sobreexpresión de la expresión de la Sem3A, tanto la secretada como la unida a membrana, y se ha sugerido entonces que esta semaforina inhibe la regeneración axonal en la cicatriz glial [78,79]. Finalmente, se ha comunicado que factores neurotróficos como el factor de crecimiento de nervios (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y las neurotrofinas 3 y 4 (NT-3, NT-4) están disminuidos en la lesión medular [80].

Células de la glía envolvente olfatoria

Generalidades

Las CGEO son un tipo especializado de glía, derivadas de la placa olfatoria, que se localizan en el sistema nervioso central, en las dos capas más externas del bulbo olfatorio y en el sistema nervioso periférico (SNP), a lo largo del trayecto de la vía olfatoria, envolviendo los axones olfatorios desde la mucosa olfatoria hasta el bulbo. Estas células contribuyen al crecimiento y ubicación de los axones olfatorios durante el desarrollo y al recambio normal de las neuronas en el epitelio olfatorio. Basándose en sus propiedades de promover regeneración, las CGEO han emergido como uno de los principales candidatos para el trasplante en la lesión medular [11,81-84].

Se han descrito dos poblaciones de células, que son las del bulbo olfatorio y las de la lámina propia de la mucosa olfatoria [82], que tienen heterogeneidad morfológica, funcional y antigénica [85,86]. Mientras las CGEO de bulbo olfatorio expresan antígenos que incluyen los p75^{NTR}, S100b, GFAP y NPY, las de la lámina propia son positivas para los CD 44, β1 integrina, P200, Notch 3, NG2 y VEGF. Estos diversos perfiles antigénicos pueden reflejar diferencias en la función, que pueden reflejar una influencia diferente en el crecimiento axonal y la disminución de la lesión [87,88]. Richter et al demostraron que las CGEO de lámina propia migraban de modo más efectivo e inducían una mejor regeneración axonal y reconexión de los circuitos locales que las del bulbo olfatorio [89].

Mecanismos de acción de las CGEO en la lesión medular

Producción de moléculas: factores de crecimiento, factores neurotróficos y otros

El principal mecanismo por el que se explican los efectos del trasplante de CGEO en la regeneración axonal es la producción de factores solubles. Las CGEO liberan varios factores solubles, involucrados en la proliferación y diferenciación de los precursores neuronales, entre ellos el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF) y el LIF, que se ha sugerido que participan de manera activa en la regulación de la neurogénesis [90-93]. Se ha probado que el FGF básico (bFGF o FGF2) puede estimular la proliferación de progenitores neuronales y la diferenciación del epitelio olfatorio y que las CGEO expresan el receptor -1 del aFGF (FGF ácido). Los aFGF y bFGF no sólo mantienen la supervivencia de las neuronas lesionadas sino que estimulan la revascularización y ciertas respuestas gliales a la lesión [94]. También se ha demostrado que el aFGF incrementa la supervivencia neuronal y mejora la capacidad de recrecimiento de las neuronas maduras, induce la regeneración axonal y la recuperación funcional de las ratas parapléjicas [6,95-97].

La familia de factores de crecimiento parecidos a la insulina I y II (IGF) y sus receptores son esenciales en el desarrollo del SNC y participan en la neurogénesis en el cerebro adulto [98]. MacCurdy et al probaron que la estimulación con IGF-1 producida por las CGEO inducía proliferación de precursores neuronales y diferenciación de los mismos en las neuronas del epitelio olfatorio [93]. También se ha propuesto la participación del LIF en la neurogénesis inducida por las CGEO. En un modelo *in vivo* de ablación del bulbo olfatorio en un ratón se demostró que esta citocina estaba involucrada en los eventos celulares que llevaban a la regeneración del bulbo olfatorio estimulando la proliferación neuronal [90].

Las CGEO en cultivo expresaban varios factores neurotróficos, NGF, BDNF y factor neurotrófico derivado de glía (GDNF), que se cree que estimulan la regeneración axonal inducida por las CGEO en la lesión medular [99,100]. Se ha comunicado que las neurotrofinas 3, 4 y 5 (NT-3,4,5) en el epitelio olfatorio inducen la regeneración axonal *in vivo* y el crecimiento de neuronas en cultivo y que después de bulbectomía olfatoria, las CGE expresan NGF e inducen neurogénesis en el epitelio olfatorio [101,102].

El uso de factores neurotróficos en modelos de lesión medular induce la regeneración de axones en varios tractos espinales. La infusión de NGF pro-

mueve una regeneración de los axones de los haces supraespinales, rafaespinal y el rubro espinal [103]. De modo similar, el trasplante de fibroblastos modificados que expresan BDNF, cuatro a cinco semanas poslesión, indujo el recrecimiento de axones del tracto rubroespinal [104]. Hallazgos similares en la regeneración de los tractos comunicaron Tobias et al [105], usando geles que contenían BDNF y NT-3, y Lu et al [106] trasplantando liposomas que contenían el gen de GDNF [105,106]. Las CGEO producen además MME como laminina, fibronectina, NCAM y anosmina-1, que son esenciales para el crecimiento axonal [107]. Se ha demostrado que la ausencia de estas moléculas inhibe la formación del tracto olfatorio lateral durante el desarrollo y la neurogénesis normal del epitelio olfatorio [77,108-110].

Regeneración neuronal y axonal

Hoy en día, se sabe que sí ocurre regeneración en el SNC y que puede darse por tres mecanismos: regeneración y remielinización de axones, reemplazo de células neuronales perdidas y recuperación de la función neuronal perdida [111]. Las CGEO podrían inducir regeneración por los dos primeros mecanismos.

Neurogénesis y activación de las células madre neuronales (CMN)

Las CMN son células multipotentes indiferenciadas que pueden autorrenovarse y generar los tres tipos de células que constituyen el SNC (neuronas, astrocitos y oligodendrocitos) y se han identificado en mamíferos adultos a lo largo del axis del SNC, desde el prosencéfalo hasta la médula espinal [112-114].

Yamamoto et al pudieron identificar progenitores neuronales no sólo en áreas periventriculares de la médula espinal sino en otras regiones del parénquima. Estos progenitores eran capaces de diferenciarse a neuronas y células de glía *in vitro*. También demostraron que estas células podían proliferar *in vivo* como respuesta a una lesión medular y que podían identificarse tanto en la sustancia gris como en la sustancia blanca [115]. También se ha descrito un nicho de CMN en las meninges de la médula espinal que se ha demostrado que participa activamente en la reacción parenquimal después de la lesión medular [114]. Se ha probado que en una lesión medular temprana, muchas células ordinariamente quiescentes, ubicadas en la capa ependimal, se transforman en precursores neuronales nestina+ y proliferan casi 15 veces su número comparado con la médula espinal intacta [116]. Varios autores han demostrado que las CGEO pueden inducir pro-

liferación y diferenciación de CMN a neuronas y oligodendrocitos a través de la producción de FGF, EGF, MME y otros factores neurotróficos [117-119]. Estos resultados demuestran que en una lesión medular se induce la proliferación de CMN endógenas, posiblemente por producción de factores de crecimiento en el microambiente local y, en consecuencia, las terapias que generen un microambiente que promueva la proliferación y diferenciación de progenitores neuronales endógenos son una importante alternativa.

Regeneración axonal

Muchos trabajos han demostrado que las CGEO tienen la capacidad de promover tanto regeneración axonal [11,13,89,120-122] como remielinización de axones dañados [12,122-125]. Sin embargo, los mecanismos por los que se inducen estos efectos no están del todo claros. La recuperación funcional se puede lograr por la restauración de la señal de conducción a través de la lesión. Hay dos vías principales por las que se restablece la señal: regeneración de axones dañados y formación de vías de reconexión. Las CGEO pueden utilizar estas dos vías y lo hacen por mecanismos directos o indirectos [126]. Los mecanismos directos consisten en que las CGEO pueden actuar como sustrato físico para el crecimiento de neuritas; se ha demostrado que el crecimiento de éstas se promueve de modo más efectivo cuando las CGEO están en estrecho contacto con las neuronas [127,128].

Los mecanismos indirectos tienen que ver con la producción de factores de crecimiento y neurotrofinas y con la activación de otras células como glía y células de Schwann [87]. Streppel et al, en un modelo de lesión del nervio periférico y trasplante de CGEO, utilizando anticuerpos contra BDNF, FGF, IGF y NGF, encontraron que su inhibición frenaba la regeneración axonal inducida por las CGEO [129]. Otros investigadores verificaron el efecto de los medios condicionados producidos por las CGEO y comprobaron que las proteínas solubles de los medios (FGF, IGF, TGF, laminina, entre otros) inducían el crecimiento de neuritas en cultivos neuronales *in vitro* y el desarrollo de fibras adrenérgicas *in vivo* [130].

Las CGEO pueden adicionalmente modular otras células en el SNC, así pueden por ejemplo reducir el número de astrocitos y en paralelo el de la respuesta inflamatoria [89,131,132]. En modelos *in vitro* de astrogliosis se ha podido comprobar que los astrocitos reactivos disminuyen y expresan menos GFAP cuando se cocultivan con CGEO [133]. Li et al plantearon que la capacidad reparativa también po-

día deberse a la interacción de las CGEO con los astrocitos. Estas células ejercerían una acción de puerta abierta en los astrocitos en el sitio llevando a un rearrreglo de sus procesos celulares para formar canales para que los axones pasen a través de ellos. Los astrocitos y las CGEO formarían canales cuya superficie externa tendría moléculas inhibitorias del crecimiento y la interna estaría desprovista de las mismas, lo que permitiría la elongación de los axones [134]. También hay evidencia de que en modelos de lesión medular fotoquímica, las CGEO reducen la expresión de proteoglicanos (moléculas que inhiben el rebrote axonal) por parte de los astrocitos y crean un microambiente favorable para la regeneración [132].

Remielinización

Muchos datos indican que las CGEO son excelentes candidatos para las terapias de remielinización tanto en la lesión medular como en modelos de enfermedades demielinizantes [12,122,124,135]. Esta propiedad remielinizante puede ser directa a través de la producción de mielina por parte de las CGEO [136] o indirecta por la inducción de la proliferación de los oligodendrocitos [137]. Devon et al comunicaron la primera evidencia de que las CGEO fetales pueden sintetizar mielina al igual que las células de Schwann *in vitro* [138,139]. Estos hallazgos fueron confirmados por Radtke et al, quienes observaron que las CGEO en cultivo tienen la capacidad de expresar CNPasa, un marcador de células formadoras de mielina, tanto en la membrana como en microtúbulos, así concluyeron que estas células tienen la capacidad intrínseca de producir mielina [140].

También se ha evidenciado la capacidad de las CGEO de producir mielina *in vivo*; el grupo de Kocsis mostró el potencial mielinizante de estas células en un modelo de demielinización de la médula espinal. Sin embargo, no pudieron diferenciar los axones mielinizados por las CGEO trasplantadas de los mielinizados por las células de Schwann del huésped [141]. Intentaron resolver el dilema utilizando CGEO que expresaran constitutivamente proteína fluorescente verde (GFP) y pudieron verificar que aproximadamente la mitad de los axones que mostraban mielina compacta estaban siendo mielinados por células GFP positivas, lo que confirmaba la hipótesis de que las CGEO producen mielina *in vivo*, pero que había otras células del huésped que también remielinizaban axones [86]. Estos y otros autores han propuesto que en la remielinización podrían participar, además de las CGEO, las células de Schwann del huésped que migran desde

los nervios periféricos y llegan hasta el sitio de la lesión [136,142,143]. Esta migración se haría a través de la liberación de factores quimotácticos para las células de Schwann, por parte de las CGEO. En este sentido, se ha confirmado la participación del receptor NGF que se une al receptor p75 expresado en las células [136].

La remielinización observada en los modelos de trasplantes de CGEO en lesión medular también se ha asociado a la proliferación de oligodendrocitos en el sitio de la lesión. Se conoce que los precursores de oligodendrocitos persisten en el cerebro y en la médula espinal después del nacimiento y que comparten características iguales a los oligodendrocitos en el desarrollo ontogénico, como la capacidad de diferenciarse a oligodendrocitos y astrocitos y la expresión de marcadores NG2 y el receptor a del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFaR) [144,145]. Jian et al, utilizando guanosina, como estimulador de proliferación de los oligodendrocitos, mostraron que había proliferación de células NG2+ y de oligodendrocitos maduros y relacionaron la recuperación funcional vista con la remielinización por parte de estas células [146]. Uno de los pocos trabajos que confirman la proliferación de oligodendrocitos en trasplantes de CGEO es el de Masgutova et al, quienes usando un modelo de hemisección de médula espinal y trasplante de CGEO encontraron que a los 30 días poslesión había un aumento en un 15,3% en el número de progenitores de oligodendrocitos (células HNu+) y de 22,8% de oligodendrocitos maduros (O4+) y que este aumento se relacionaba con el aumento del número de axones mielinados y con una recuperación funcional en los animales tratados [137].

Conclusiones

La lesión medular induce una serie de cambios patológicos que se inician con una lesión primaria, que por una serie de mecanismos en cadena llevan a la secundaria más grave, que perpetúa el daño y no permite la regeneración. Las CGEO son una opción terapéutica en pacientes con lesión medular debido a que inducen regeneración neuronal, axonal, remielinización de axones, disminución de cicatriz glial y otros efectos que conducen a la recuperación funcional vista en modelos animales. Aunque los mecanismos por los que estas células inducen estos cambios no están del todo claros, se sabe que muchos de ellos los pueden ejercer directamente y que otros los inducen indirectamente a través de la producción de factores de crecimiento, neurotrofinas y

MME, entre otros. Aunque la bibliografía en el tema es extensa, todavía se deben investigar muchos de los efectos y mecanismos de acción.

Bibliografía

- DeVivo MJ, Chen Y. Trends in new injuries, prevalent cases, and aging with spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2011; 92: 332-8.
- Shingu H, Ohama M, Ikata T, Katoh S, Akatsu T. A nationwide epidemiological survey of spinal cord injuries in Japan from January 1990 to December 1992. *Paraplegia* 1995; 33: 183-8.
- DeVivo MJ, Fine PR, Maetz HM, Stover SL. Prevalence of spinal cord injury: a reestimation employing life table techniques. *Arch Neurol* 1980; 37: 707-8.
- Harvey C, Rothschild BB, Asmann AJ, Stripling T. New estimates of traumatic SCI prevalence: a survey-based approach. *Paraplegia* 1990; 28: 537-44.
- Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 341-58.
- Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science* 1996; 273: 510-3.
- Oudega M, Xu XM. Schwann cell transplantation for repair of the adult spinal cord. *J Neurotrauma* 2006; 23: 453-67.
- Andrews MR, Stelzner DJ. Evaluation of olfactory ensheathing and Schwann cells after implantation into a dorsal injury of adult rat spinal cord. *J Neurotrauma* 2007; 24: 1773-92.
- Guo JS, Zeng YS, Li HB, Huang WL, Liu RY, Li XB, et al. Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury. *Spinal Cord* 2007; 45: 15-24.
- Ramon-Cueto A, Nieto-Sampedro M. Regeneration into the spinal cord of transected dorsal root axons is promoted by ensheathing glia transplants. *Exp Neurol* 1994; 127: 232-44.
- Li Y, Field PM, Raisman G. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells. *Science* 1997; 277: 2000-2.
- Imaizumi T, Lankford KL, Waxman SG, Greer CA, Kocsis JD. Transplanted olfactory ensheathing cells remyelinate and enhance axonal conduction in the demyelinated dorsal columns of the rat spinal cord. *J Neurosci* 1998; 18: 6176-85.
- Ramon-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito FF, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000; 25: 425-35.
- Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. *Neurosurgery* 1998; 42: 696-708.
- Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44: 1027-40.
- McDonald JW, Sadowsky C. Spinal-cord injury. *Lancet* 2002; 359: 417-25.
- Anthes DL, Theriault E, Tator CH. Ultrastructural evidence for arteriolar vasospasm after spinal cord trauma. *Neurosurgery* 1996; 39: 804-14.
- Griffiths IR, Burns N, Crawford AR. Early vascular changes in the spinal grey matter following impact injury. *Acta Neuropathol* 1978; 41: 33-9.
- Sharma HS. Pathophysiology of blood-spinal cord barrier in traumatic injury and repair. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 1353-89.
- Sharma HS. New perspectives for the treatment options in spinal cord injury. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 2773-800.
- Sharma HS. A select combination of neurotrophins enhances neuroprotection and functional recovery following spinal cord injury. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1122: 95-111.
- Balentine JD. Spinal cord trauma: in search of the meaning of granular axoplasm and vesicular myelin. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988; 47: 77-92.
- Anthes DL, Theriault E, Tator CH. Characterization of axonal ultrastructural pathology following experimental spinal cord compression injury. *Brain Res* 1995; 702: 1-16.
- Nieto-Sampedro M, Collazos-Castro JE, Taylor JS, Gudino-Cabrera G, Verdí-Navarro E, Pascual-Piedrola JI, et al. Trauma en el sistema nervioso central y su reparación. *Rev Neurol* 2002; 35: 534-52.
- Rodríguez AV. Lesión de la médula espinal: mecanismos del daño medular. *Boletín del Departamento de Docencia e Investigación IREP* 2004; 4: 69-73.
- Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991; 37: 291-302.
- Guha A, Tator CH, Rochon J. Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. *Stroke* 1989; 20: 372-7.
- Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Three-dimensional analysis of the vascular system in the rat spinal cord with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. Part 1: normal spinal cord. *Neurosurgery* 1993; 33: 277-84.
- Conti A, Miscusi M, Cardali S, Germano A, Suzuki H, Cuzzocrea S, et al. Nitric oxide in the injured spinal cord: syntheses cross-talk, oxidative stress and inflammation. *Brain Res Rev* 2007; 54: 205-18.
- Sinescu C, Popa F, Grigorean VT, Onose G, Sandu AM, Popescu M, et al. Molecular basis of vascular events following spinal cord injury. *J Med Life* 2010; 3: 254-61.
- Bell MT, Puskas F, Smith PD, Agoston VA, Fullerton DA, Meng X, et al. Attenuation of spinal cord ischemia-reperfusion injury by specific alpha-2a receptor activation with dexmedetomidine. *J Vasc Surg* 2012; 56: 1398-402.
- Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997; 86: 483-92.
- Zhu DJ, Xia B, Bi Q, Zhang SJ, Qiu BS, Zhao C. Functional protection of pentoxifylline against spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: necrosis and apoptosis effects. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 2444-9.
- Bao F, Bailey CS, Gurr KR, Bailey SI, Rosas-Arellano MP, Dekaban GA, et al. Increased oxidative activity in human blood neutrophils and monocytes after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2009; 215: 308-16.
- Fleming JC, Norenberg MD, Ramsay DA, Dekaban GA, Marcellio AE, Saenz AD, et al. The cellular inflammatory response in human spinal cords after injury. *Brain* 2006; 129: 3249-69.
- Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Kushimoto S, Johno M, et al. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *Neuroscience* 1997; 79: 1177-82.
- Beck KD, Nguyen HX, Galvan MD, Salazar DL, Woodruff TM, Anderson AJ. Quantitative analysis of cellular inflammation after traumatic spinal cord injury: evidence for a multiphasic inflammatory response in the acute to chronic environment. *Brain* 2010; 133: 433-47.
- Nguyen HX, Beck KD, Anderson AJ. Quantitative assessment of immune cells in the injured spinal cord tissue by flow cytometry: a novel use for a cell purification method. *J Vis Exp* 2011; Apr 9. [Epub ahead of print].
- Pineau I, Sun L, Bastien D, Lacroix S. Astrocytes initiate inflammation in the injured mouse spinal cord by promoting the entry of neutrophils and inflammatory monocytes in an IL-1 receptor/MyD88-dependent fashion. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 540-53.
- Popovich PG, Guan Z, McGaughey V, Fisher L, Hickey WF, Basso DM. The neuropathological and behavioral consequences of intraspinal microglial/macrophage activation. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61: 623-33.
- Nguyen HX, Galvan MD, Anderson AJ. Characterization of early and terminal complement proteins associated with polymorphonuclear leukocytes in vitro and in vivo after spinal cord injury. *J Neuroinflammation* 2008; 5: 26.
- Popovich PG, Hickey WF. Bone marrow chimeric rats reveal the unique distribution of resident and recruited macrophages in the contused rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 676-85.

43. Pineau I, Lacroix S. Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved. *J Comp Neurol* 2007; 500: 267-85.
44. Probert L, Eugster HP, Akassoglou K, Bauer J, Frei K, Lassmann H, et al. TNFR1 signalling is critical for the development of demyelination and the limitation of T-cell responses during immune-mediated CNS disease. *Brain* 2000; 123: 2005-19.
45. David S, Kroner A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 388-99.
46. Arnett HA, Mason J, Marino M, Suzuki K, Matsushima GK, Ting JP. TNF alpha promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nat Neurosci* 2001; 4: 1116-22.
47. Takahashi K, Rochford CD, Neumann H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J Exp Med* 2005; 201: 647-57.
48. Bouhy D, Malgrange B, Multon S, Poirrier AL, Scholtes F, Schoenen J, et al. Delayed GM-CSF treatment stimulates axonal regeneration and functional recovery in paraplegic rats via an increased BDNF expression by endogenous macrophages. *FASEB J* 2006; 20: 1239-41.
49. Martínez FO, Helming L, Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 451-83.
50. Schwartz Y, Svistelnik AV. Functional phenotypes of macrophages and the m1-m2 polarization concept. Part I. Proinflammatory phenotype. *Biochemistry (Mosc)* 2012; 77: 246-60.
51. Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, Alexander JK, Donnelly DJ, Popovich PG. Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord. *J Neurosci* 2009; 29: 13435-44.
52. Ankeny DP, Guan Z, Popovich PG. B cells produce pathogenic antibodies and impair recovery after spinal cord injury in mice. *J Clin Invest* 2009; 119: 2990-9.
53. Ankeny DP, Popovich PG. B cells and autoantibodies: complex roles in CNS injury. *Trends Immunol* 2010; 31: 332-8.
54. Wu B, Matic D, Djogo N, Szpotowicz E, Schachner M, Jakovcevski I. Improved regeneration after spinal cord injury in mice lacking functional T- and B-lymphocytes. *Exp Neurol* 2012; 237: 274-85.
55. Rice T, Larsen J, Rivest S, Yong VW. Characterization of the early neuroinflammation after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 184-95.
56. Sato A, Ohtaki H, Tsumuraya T, Song D, Ohara K, Asano M, et al. Interleukin-1 participates in the classical and alternative activation of microglia/macrophages after spinal cord injury. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 65.
57. Genovese T, Mazzon E, Crisafulli C, Di Paola R, Muia C, Esposito E, et al. TNF-alpha blockage in a mouse model of SCI: evidence for improved outcome. *Shock* 2008; 29: 32-41.
58. Chen KB, Uchida K, Nakajima H, Yayama T, Hirai T, Watanabe S, et al. Tumor necrosis factor-alpha antagonist reduces apoptosis of neurons and oligodendroglia in rat spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)* 2011; 36: 1350-8.
59. Inukai T, Uchida K, Nakajima H, Yayama T, Kobayashi S, Mwaka ES, et al. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors contribute to apoptosis of oligodendrocytes in the spinal cord of spinal hyperostotic mouse (twy/twy) sustaining chronic mechanical compression. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009; 34: 2848-57.
60. Mukaino M, Nakamura M, Yamada O, Okada S, Morikawa S, Renault-Mihara F, et al. Anti-IL-6-receptor antibody promotes repair of spinal cord injury by inducing microglia-dominant inflammation. *Exp Neurol* 2010; 224: 403-14.
61. Guerrero AR, Uchida K, Nakajima H, Watanabe S, Nakamura M, Johnson WE, et al. Blockade of interleukin-6 signaling inhibits the classic pathway and promotes an alternative pathway of macrophage activation after spinal cord injury in mice. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 40.
62. Cho N, Nguyen DH, Satkunendrarajah K, Branch DR, Fehlings MG. Evaluating the role of IL-11, a novel cytokine in the IL-6 family, in a mouse model of spinal cord injury. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 134.
63. Bao F, Liu D. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces neuron death and neurological deficits. *Neuroscience* 2002; 115: 839-49.
64. Bao F, Chen Y, Dekaban GA, Weaver LC. Early anti-inflammatory treatment reduces lipid peroxidation and protein nitration after spinal cord injury in rats. *J Neurochem* 2004; 88: 1335-44.
65. Sun D, Lye-Barthel M, Masland RH, Jakobs TC. Structural remodeling of fibrous astrocytes after axonal injury. *J Neurosci* 2010; 30: 14008-19.
66. Wang Y, Cheng X, He Q, Zheng Y, Kim DH, Whittemore SR, et al. Astrocytes from the contused spinal cord inhibit oligodendrocyte differentiation of adult oligodendrocyte precursor cells by increasing the expression of bone morphogenetic proteins. *J Neurosci* 2011; 31: 6053-8.
67. Brambilla R, Bracchi-Ricard V, Hu WH, Frydel B, Bramwell A, Karmally S, et al. Inhibition of astroglial nuclear factor kappaB reduces inflammation and improves functional recovery after spinal cord injury. *J Exp Med* 2005; 202: 145-56.
68. Fitch MT, Silver J. CNS injury, glial scars, and inflammation: inhibitory extracellular matrices and regeneration failure. *Exp Neurol* 2008; 209: 294-301.
69. Sofroniew MV. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci* 2009; 32: 638-47.
70. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 119: 7-35.
71. Cao Z, Gao Y, Deng K, Williams G, Doherty P, Walsh FS. Receptors for myelin inhibitors: structures and therapeutic opportunities. *Mol Cell Neurosci* 2010; 43: 1-14.
72. Jones LL, Yamaguchi Y, Stallcup WB, Tuszynski MH. NG2 is a major chondroitin sulfate proteoglycan produced after spinal cord injury and is expressed by macrophages and oligodendrocyte progenitors. *J Neurosci* 2002; 22: 2792-803.
73. Akbik F, Cafferty WB, Strittmatter SM. Myelin associated inhibitors: a link between injury-induced and experience-dependent plasticity. *Exp Neurol* 2012; 235: 43-52.
74. Ji B, Case LC, Liu K, Shao Z, Lee X, Yang Z, et al. Assessment of functional recovery and axonal sprouting in oligodendrocyte-myelin glycoprotein (OMgp) null mice after spinal cord injury. *Mol Cell Neurosci* 2008; 39: 258-67.
75. Strittmatter S. Spinal cord regeneration: ready, set, nogo. *Eukaryon* 2010; 6: 55-60.
76. Filbin MT. Recapitulate development to promote axonal regeneration: good or bad approach? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361: 1565-74.
77. De Castro F. Wiring olfaction: the cellular and molecular mechanisms that guide the development of synaptic connections from the nose to the cortex. *Front Neurosci* 2009; 3: 52.
78. De Winter F, Oudega M, Lankhorst AJ, Hamers FP, Blits B, Ruitenberg MJ, et al. Injury-induced class 3 semaphorin expression in the rat spinal cord. *Exp Neurol* 2002; 175: 61-75.
79. Lee JK, Chow R, Xie F, Chow SY, Tolentino KE, Zheng B. Combined genetic attenuation of myelin and semaphorin-mediated growth inhibition is insufficient to promote serotonergic axon regeneration. *J Neurosci* 2010; 30: 10899-904.
80. Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem* 2003; 72: 609-42.
81. Radtke C, Wewetzer K. Translating basic research into clinical practice or what else do we have to learn about olfactory ensheathing cells? *Neurosci Lett* 2009; 456: 133-6.
82. Franssen EH, De Bree FM, Verhaagen J. Olfactory ensheathing glia: their contribution to primary olfactory nervous system regeneration and their regenerative potential following transplantation into the injured spinal cord. *Brain Res Rev* 2007; 56: 236-58.
83. Katoh H, Shibata S, Fukuda K, Sato M, Satoh E, Nagoshi N, et al. The dual origin of the peripheral olfactory system: placode and neural crest. *Mol Brain* 2011; 4: 34.
84. Furni PE, Taylor-Burds C, Melvin VS, Williams T, Wray S. Neural crest and ectodermal cells intermix in the nasal

- placode to give rise to GnRH-1 neurons, sensory neurons, and olfactory ensheathing cells. *J Neurosci* 2011; 31: 6915-27.
85. Ramón-Cueto A, Avila J. Olfactory ensheathing glia: properties and function. *Brain Res Bull* 1998; 46: 175-87.
 86. Sasaki M, Lankford KL, Zemedkun M, Kocsis JD. Identified olfactory ensheathing cells transplanted into the transected dorsal funiculus bridge the lesion and form myelin. *J Neurosci* 2004; 24: 8485-93.
 87. Au E, Roskams AJ. Olfactory ensheathing cells of the lamina propria in vivo and in vitro. *Glia* 2003; 41: 224-36.
 88. Su Z, He C. Olfactory ensheathing cells: biology in neural development and regeneration. *Prog Neurobiol* 2010; 92: 517-32.
 89. Richter MW, Fletcher PA, Liu J, Tetzlaff W, Roskams AJ. Lamina propria and olfactory bulb ensheathing cells exhibit differential integration and migration and promote differential axon sprouting in the lesioned spinal cord. *J Neurosci* 2005; 25: 10700-11.
 90. Bauer S, Rasika S, Han J, Mauduit C, Raccurt M, Morel G, et al. Leukemia inhibitory factor is a key signal for injury-induced neurogenesis in the adult mouse olfactory epithelium. *J Neurosci* 2003; 23: 1792-803.
 91. Hsu P, Yu F, Feron F, Pickles JO, Sneesby K, Mackay-Sim A. Basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptors in adult olfactory epithelium. *Brain Res* 2001; 896: 188-97.
 92. Wu JC, Huang WC, Chen YC, Tu TH, Tsai YA, Huang SF, et al. Acidic fibroblast growth factor for repair of human spinal cord injury: a clinical trial. *J Neurosurg Spine* 2011; 15: 216-27.
 93. McCurdy RD, Feron F, McGrath JJ, Mackay-Sim A. Regulation of adult olfactory neurogenesis by insulin-like growth factor-I. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 1581-8.
 94. Chuah MI, Teague R. Basic fibroblast growth factor in the primary olfactory pathway: mitogenic effect on ensheathing cells. *Neuroscience* 1999; 88: 1043-50.
 95. Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exp Neurol* 1997; 148: 475-94.
 96. Bregman BS, Coumans JV, Dai HN, Kuhn PL, Lynskey J, McAtee M, et al. Transplants and neurotrophic factors increase regeneration and recovery of function after spinal cord injury. *Prog Brain Res* 2002; 137: 257-73.
 97. Tsai MC, Shen LF, Kuo HS, Cheng H, Chak KF. Involvement of acidic fibroblast growth factor in spinal cord injury repair processes revealed by a proteomics approach. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7: 1668-87.
 98. Bondy CA, Cheng CM. Signaling by insulin-like growth factor 1 in brain. *Eur J Pharmacol* 2004; 490: 25-31.
 99. Woodhall E, West AK, Chuah MI. Cultured olfactory ensheathing cells express nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, glia cell line-derived neurotrophic factor and their receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 2001; 88: 203-13.
 100. Lipson AC, Widenfalk J, Lindqvist E, Ebendal T, Olson L. Neurotrophic properties of olfactory ensheathing glia. *Exp Neurol* 2003; 180: 167-71.
 101. Roskams AJ, Bethel MA, Hurt KJ, Ronnett GV. Sequential expression of Trks A, B, and C in the regenerating olfactory neuroepithelium. *J Neurosci* 1996; 16: 1294-307.
 102. Boruch AV, Connors JJ, Pipitone M, Deadwyler G, Storer PD, Devries GH, et al. Neurotrophic and migratory properties of an olfactory ensheathing cell line. *Glia* 2001; 33: 225-9.
 103. Grill RJ, Blesch A, Tuszynski MH. Robust growth of chronically injured spinal cord axons induced by grafts of genetically modified NGF-secreting cells. *Exp Neurol* 1997; 148: 444-52.
 104. Jin Y, Fischer I, Tessler A, Houle JD. Transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF promote axonal regeneration from supraspinal neurons following chronic spinal cord injury. *Exp Neurol* 2002; 177: 265-75.
 105. Tobias CA, Shumsky JS, Shibata M, Tuszynski MH, Fischer I, Tessler A, et al. Delayed grafting of BDNF and NT-3 producing fibroblasts into the injured spinal cord stimulates sprouting, partially rescues axotomized red nucleus neurons from loss and atrophy, and provides limited regeneration. *Exp Neurol* 2003; 184: 97-113.
 106. Lu KW, Chen ZY, Jin DD, Hou TS, Cao L, Fu Q. Cationic liposome-mediated GDNF gene transfer after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2002; 19: 1081-90.
 107. Doucette R. Immunohistochemical localization of laminin, fibronectin and collagen type IV in the nerve fiber layer of the olfactory bulb. *Int J Dev Neurosci* 1996; 14: 945-59.
 108. Gong Q, Shipley MT. Expression of extracellular matrix molecules and cell surface molecules in the olfactory nerve pathway during early development. *J Comp Neurol* 1996; 366: 1-14.
 109. Liesi P. Laminin-immunoreactive glia distinguish regenerative adult CNS systems from non-regenerative ones. *EMBO J* 1985; 4: 2505-11.
 110. Soussi-Yanicostas N, De Castro F, Julliard AK, Perfettini I, Chedotal A, Petit C. Anosmin-1, defective in the X-linked form of Kallmann syndrome, promotes axonal branch formation from olfactory bulb output neurons. *Cell* 2002; 109: 217-28.
 111. Okano H, Sawamoto K. Neural stem cells: involvement in adult neurogenesis and CNS repair. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008; 363: 2111-22.
 112. Temple S, Álvarez-Buylla A. Stem cells in the adult mammalian central nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9: 135-41.
 113. Okano H. Neural stem cells and strategies for the regeneration of the central nervous system. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2010; 86: 438-50.
 114. Decimo I, Bifari F, Rodriguez FJ, Malpeli G, Dolci S, Lavarini V, et al. Nestin- and doublecortin-positive cells reside in adult spinal cord meninges and participate in injury-induced parenchymal reaction. *Stem Cells* 2011; 29: 2062-76.
 115. Yamamoto S, Yamamoto N, Kitamura T, Nakamura K, Nakafuku M. Proliferation of parenchymal neural progenitors in response to injury in the adult rat spinal cord. *Exp Neurol* 2001; 172: 115-27.
 116. Xu Y, Kitada M, Yamaguchi M, Dezawa M, Ide C. Increase in bFGF-responsive neural progenitor population following contusion injury of the adult rodent spinal cord. *Neurosci Lett* 2006; 397: 174-9.
 117. Cao L, Mu L, Qiu Y, Su Z, Zhu Y, Gao L, et al. Diffusible, membrane-bound, and extracellular matrix factors from olfactory ensheathing cells have different effects on the self-renewing and differentiating properties of neural stem cells. *Brain Res* 2010; 1359: 56-66.
 118. Silva NA, Cooke MJ, Tam RY, Sousa N, Salgado AJ, Reis RL, et al. The effects of peptide modified gellan gum and olfactory ensheathing glia cells on neural stem/progenitor cell fate. *Biomaterials* 2012; 33: 6345-54.
 119. Chehrehasa F, Ekberg JA, Lineburg K, Amaya D, Mackay-Sim A, St John JA. Two phases of replacement replenish the olfactory ensheathing cell population after injury in postnatal mice. *Glia* 2012; 60: 322-32.
 120. Gorrie CA, Hayward I, Cameron N, Kailainathan G, Nandapalan N, Sutharsan R, et al. Effects of human OEC-derived cell transplants in rodent spinal cord contusion injury. *Brain Res* 2010; 1337: 8-20.
 121. Li BC, Li Y, Chen LF, Chang JY, Duan ZX. Olfactory ensheathing cells can reduce the tissue loss but not the cavity formation in contused spinal cord of rats. *J Neurol Sci* 2011; 303: 67-74.
 122. Sandvig I, Thuen M, Hoang L, Olsen O, Sardella TC, Brekken C, et al. In vivo MRI of olfactory ensheathing cell grafts and regenerating axons in transplant mediated repair of the adult rat optic nerve. *NMR Biomed* 2012; 25: 620-31.
 123. Imaizumi T, Lankford KL, Kocsis JD. Transplantation of olfactory ensheathing cells or Schwann cells restores rapid and secure conduction across the transected spinal cord. *Brain Res* 2000; 854: 70-8.
 124. Radtke C, Akiyama Y, Brokaw J, Lankford KL, Wewetzer K, Fodor WL, et al. Remyelination of the nonhuman primate spinal cord by transplantation of H-transferase transgenic adult pig olfactory ensheathing cells. *FASEB J* 2004; 18: 335-7.
 125. Sasaki M, Lankford KL, Radtke C, Honmou O, Kocsis JD. Remyelination after olfactory ensheathing cell transplantation into diverse demyelinating environments. *Exp Neurol* 2011; 229: 88-98.

126. Deumens R, Koopmans GC, Joosten EA. Regeneration of descending axon tracts after spinal cord injury. *Prog Neurobiol* 2005; 77: 57-89.
127. Chung RS, Woodhouse A, Fung S, Dickson TC, West AK, Vickers JC, et al. Olfactory ensheathing cells promote neurite sprouting of injured axons in vitro by direct cellular contact and secretion of soluble factors. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 1238-45.
128. Pellitteri R, Spatuzza M, Russo A, Zaccheo D, Stanzani S. Olfactory ensheathing cells represent an optimal substrate for hippocampal neurons: an in vitro study. *Int J Dev Neurosci* 2009; 27: 453-8.
129. Streppel M, Azzolin N, Dohm S, Guntinas-Lichius O, Haas C, Grothe C, et al. Focal application of neutralizing antibodies to soluble neurotrophic factors reduces collateral axonal branching after peripheral nerve lesion. *Eur J Neurosci* 2002; 15: 1327-42.
130. Au E, Richter MW, Vincent AJ, Tetzlaff W, Aebersold R, Sage EH, et al. SPARC from olfactory ensheathing cells stimulates Schwann cells to promote neurite outgrowth and enhances spinal cord repair. *J Neurosci* 2007; 27: 7208-21.
131. Chuah MI, Choi-Lundberg D, Weston S, Vincent AJ, Chung RS, Vickers JC, et al. Olfactory ensheathing cells promote collateral axonal branching in the injured adult rat spinal cord. *Exp Neurol* 2004; 185: 15-25.
132. Verdu E, Garcia-Alias G, Fores J, Gudino-Cabrera G, Muneton VC, Nieto-Sampedro M, et al. Effects of ensheathing cells transplanted into photochemically damaged spinal cord. *Neuroreport* 2001; 12: 2303-9.
133. O'Toole DA, West AK, Chuah MI. Effect of olfactory ensheathing cells on reactive astrocytes in vitro. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 1303-9.
134. Li Y, Li D, Raisman G. Interaction of olfactory ensheathing cells with astrocytes may be the key to repair of tract injuries in the spinal cord: the 'pathway hypothesis'. *J Neurocytol* 2005; 34: 343-51.
135. Li Y, Bao J, Khatibi NH, Chen L, Wang H, Duan Y, et al. Olfactory ensheathing cell transplantation into spinal cord prolongs the survival of mutant SOD1(G93A) ALS rats through neuroprotection and remyelination. *Anat Rec (Hoboken)* 2011; 294: 847-57.
136. Boyd JG, Doucette R, Kawaja MD. Defining the role of olfactory ensheathing cells in facilitating axon remyelination following damage to the spinal cord. *FASEB J* 2005; 19: 694-703.
137. Masgutova GA, Savchenko EA, Viktorov IV, Masgutov RF, Chelyshev YA. Reaction of oligodendrocytes to spinal cord injury in rats and transplantation of human olfactory ensheathing cells. *Bull Exp Biol Med* 2010; 149: 135-9.
138. Devon R, Doucette R. Olfactory ensheathing cells myelinate dorsal root ganglion neurites. *Brain Res* 1992; 589: 175-9.
139. Devon R, Doucette R. Olfactory ensheathing cells do not require L-ascorbic acid in vitro to assemble a basal lamina or to myelinate dorsal root ganglion neurites. *Brain Res* 1995; 688: 223-9.
140. Radtke C, Sasaki M, Lankford KL, Gallo V, Kocsis JD. CNPase expression in olfactory ensheathing cells. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 608496.
141. Akiyama Y, Lankford K, Radtke C, Greer CA, Kocsis JD. Remyelination of spinal cord axons by olfactory ensheathing cells and Schwann cells derived from a transgenic rat expressing alkaline phosphatase marker gene. *Neuron Glia Biol* 2004; 1: 47-55.
142. Takami T, Oudega M, Bates ML, Wood PM, Kleitman N, Bunge MB. Schwann cell but not olfactory ensheathing glia transplants improve hindlimb locomotor performance in the moderately contused adult rat thoracic spinal cord. *J Neurosci* 2002; 22: 6670-81.
143. Riddell JS, Enriquez-Denton M, Toft A, Fairless R, Barnett SC. Olfactory ensheathing cell grafts have minimal influence on regeneration at the dorsal root entry zone following rhizotomy. *Glia* 2004; 47: 150-67.
144. McTigue DM, Tripathi RB. The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J Neurochem* 2008; 107: 1-19.
145. Yoo S, Wrathall JR. Mixed primary culture and clonal analysis provide evidence that NG2 proteoglycan-expressing cells after spinal cord injury are glial progenitors. *Dev Neurobiol* 2007; 67: 860-74.
146. Jiang S, Ballerini P, Buccella S, Giuliani P, Jiang C, Huang X, et al. Remyelination after chronic spinal cord injury is associated with proliferation of endogenous adult progenitor cells after systemic administration of guanosine. *Purinergic Signal* 2008; 4: 61-71.

Pathogenesis of spinal cord injuries and mechanisms of repair induced by olfactory ensheathing cells

Introduction. Spinal cord injury is a catastrophic event with permanent consequences during the all life. Treatment research has been based in the development of therapies that reduce the discapacity, but since the nineties there has been an important advance and several cellular transplants have been tested in spinal cord animal models, like Schwann cells, astrocytes and olfactory and olfactory ensheathing cells (OEC).

Aim. Detailed account of spinal cord injury pathogeny, primary and secondary, and the OEC mechanisms for the regeneration effects that have been described in the literature.

Development. After the trauma, spinal cord injury develops in two phases, the primary injury with characteristics compression lesions, and the secondary produce for several factors that occur in parallel and include: vascular, cellular and molecular factors, and glial scar formation. The most of spinal cord models and OEC transplants have been reported functional recovery, remielinization and axonal regeneration. These cells exert their action in a direct way by producing grow factors and in an indirect way inducing directly neuronal an axonal regeneration and remielinization.

Conclusions. OEC are a therapeutic option in patients with spinal cord injury, because they induce in a direct or indirect way, neuronal and axonal regeneration, remielinization, decrease the glial scar and produce other effects that conduce a functional recovery.

Key words. Axonal regeneration. Cellular transplants. Neuronal regeneration. Olfactory ensheathing cells. Remielinization. Spinal cord injury.