



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

Estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la Esclerosis Múltiple

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Febrero 2021

Autor: Joan Doménech Martí

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Francisco Navarrete Rueda

ÍNDICE

ÍNDICE	2
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Definición, etiología y epidemiología de la Esclerosis Múltiple	5
1.2. Clínica y diagnóstico de la EM	6
1.3. Neuropatología de la EM.....	8
1.4. Tratamiento actual de la EM.....	11
1.5. Interés de la neuroprotección en la EM.....	15
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
4. RESULTADOS	20
4.1. Estrategias farmacológicas neuroprotectoras	20
4.1.1. <i>Estrés oxidativo</i>	20
4.1.2. <i>Neuroinflamación</i>	24
4.1.3. <i>Factores neurotróficos</i>	26
4.1.4. <i>Excitotoxicidad glutamatérgica</i>	27
4.1.5. <i>Estrés del retículo endoplasmático</i>	29
4.2. Estrategias farmacológicas neuroreparadoras	32
4.2.1. <i>Inhibición dual de la PDE-7 y quinasa GSK-3</i>	32
4.2.2. <i>Promoción de la expresión de factores de transcripción de oligodendrocitos (Olig1 y Olig2)</i>	33
4.2.3. <i>Promoción de la expresión de la proteína NG2</i>	34
4.2.4. <i>Modulación del receptor estrogénico β (ERβ)</i>	35
4.2.5. <i>Inducción de la apoptosis en la microglía</i>	37
5. DISCUSIÓN	40
6. CONCLUSIONES	44
7. BIBLIOGRAFÍA	45

LISTADO DE ABREVIATURAS:

- **ACM:** medio de cultivo astrocítico condicionado
- **BHE:** barrera hematoencefálica
- **BDNF:** factor neurotrófico derivado del cerebro
- **CAT:** Catalpol
- **CBD:** cannabidiol
- **CGR:** células ganglionares de la retina
- **COX:** citocromo C oxidasa
- **CPO:** células precursoras de oligodendrocitos
- **DPN:** diarilpropionitrilo
- **EAE:** encefalitis autoinmune experimental
- **EM:** esclerosis múltiple
- **ER α , ER β :** receptores de estrógenos α y β
- **ERE:** estrés del retículo endoplasmático
- **FF:** fosfato de fingolimod
- **GSK-3:** quinasa glucogeno-sintasa-3
- **HO1:** hemo-oxigenasa-1
- **IFN- β :** interferón beta
- **IFN- γ :** interferón gamma
- **IgG:** inmunoglobulina G
- **IL:** interleuquina
- **IndCl:** cloroindazol
- **KYC:** N-acetil lisiltirosilcisteína amida
- **LPC:** lisofosfatidilcolina
- **MOG:** glicoproteína oligodendroglial de mielina
- **NK:** Natural Killer
- **NMDA:** N-metil-D-aspartato
- **NO:** óxido nítrico
- **PA:** acetato de prednisona
- **PBM:** proteína básica de mielina
- **PBMCs:** células mononucleares de sangre periférica
- **PDE-7:** fosfodiesterasa-7
- **PLP:** péptido de la proteína proteolípida
- **RMN:** resonancia magnética nuclear
- **ROS:** especies reactivas de oxígeno
- **S1P1:** receptor 1 de la esfingosina-1-fosfato
- **SNC:** sistema nervioso central
- **THC:** tetrahidrocannabinol
- **TNF- α :** factor de necrosis tumoral alfa
- **Trx-2:** tioredoxina
- **VEH:** vehículo
- **Vitk3:** Menadiona
- **WAY:** WAY 202041

RESUMEN

Actualmente, todas las estrategias terapéuticas en el tratamiento de la EM están basadas en controlar el componente inflamatorio de la enfermedad y en paliar la sintomatología, presentando limitaciones a la hora de conseguir un efecto neuroprotector que pueda frenar la progresión de la enfermedad. Además, cabe destacar que aún no se dispone de tratamientos neuroreparadores con capacidad potencial para revertir la EM. Por ello, existe un gran interés en este tipo de estrategias para el tratamiento de ésta y otras enfermedades neurodegenerativas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es realizar una revisión bibliográfica acerca de las estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras en el tratamiento de la EM.

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en la base de datos *Medline*, a través de su buscador *PubMed*. Se emplearon las palabras clave y sus combinaciones en inglés junto con operadores booleanos. A la hora de realizar la selección final de los artículos analizados se aplicaron una serie de criterios de inclusión y exclusión. Las referencias que se incluyeron abarcan estudios sobre estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras, ambas centradas en el tratamiento de la EM.

Los resultados de estos estudios mostraron que las estrategias farmacológicas neuroprotectoras reducen la progresión de la discapacidad en los pacientes con EM. Estas estrategias se basan en la modulación de eventos transcurridos durante la enfermedad a nivel del SNC, como el estrés oxidativo, la inflamación, la excitotoxicidad o el estrés del retículo endoplasmático, y suponen una vía de tratamiento prometedora frente a la EM. Yendo un paso más allá, las estrategias neuroreparadoras estudiadas fomentan la remielinización axonal, pudiendo ser prometedoras a la hora de revertir la enfermedad.

Sin embargo, se deben realizar más estudios acerca de este tipo de estrategias con el fin de comprobar sus efectos en pacientes con EM, así como para evaluar la eficacia, seguridad y tolerabilidad a nivel clínico. Con todo, existen evidencias muy esperanzadoras sobre el futuro potencial de estas estrategias farmacológicas en el tratamiento de la EM y otras enfermedades neurodegenerativas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición, etiología y epidemiología de la Esclerosis Múltiple

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica autoinmune del Sistema Nervioso Central (SNC). Se caracteriza por la presencia de múltiples placas diseminadas de desmielinización, localizadas tanto en la materia blanca como en la materia gris y distribuidas a lo largo del cerebro, del nervio óptico y de la médula espinal¹. Esto supone la alteración de la transmisión de los impulsos nerviosos, dando lugar a múltiples y variados síntomas y signos de disfunción del SNC, como pueden ser la pérdida de equilibrio, debilidad, parálisis, fatiga, depresión y deterioro cognitivo, junto con alteraciones sensoriales, visuales o del habla^{1, 2}. Dependiendo de su comportamiento clínico, la EM puede clasificarse en 4 tipos: esclerosis múltiple remitente-recurrente (representa el 85-90% de los casos), progresiva secundaria, progresiva primaria y progresiva recurrente^{2, 3}. La EM está mediada por una respuesta inmune anómala en individuos con cierta predisposición genética, pudiendo intervenir factores de riesgo que podrían influir sobre el desarrollo y la progresión de la enfermedad, como vivir en latitudes altas, el tabaquismo, los niveles bajos de vitamina D, la infección por el virus de Epstein-Barr y un elevado nivel de masa corporal durante la adolescencia².

La EM es la enfermedad desmielinizante del SNC más frecuente y supone la primera causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes^{3, 4}. Esta enfermedad comienza en torno a los 25-30 años de edad y puede presentarse tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, diversos estudios epidemiológicos han demostrado que afecta con mayor frecuencia a las mujeres^{4, 5}. Se estima que, a nivel mundial, la EM afecta a 2,3 millones de personas², con una tendencia en aumento a lo largo de las últimas décadas, lo cual podría explicarse por los avances en la medicina o la amplia disponibilidad de pruebas de resonancia magnética⁴. En la población general, la probabilidad de desarrollar EM es inferior al 0,1%; sin embargo, existe un aumento del riesgo de desarrollar la enfermedad en función del parentesco familiar. Los costes económicos, sociales y médicos asociados a la EM son notables; por ejemplo,

en España, únicamente el coste del tratamiento de la enfermedad se sitúa en torno a los 1200 millones de euros anuales⁵.

1.2. Clínica y diagnóstico de la EM

El curso de la EM es variable, caracterizándose mayoritariamente por periodos de remisión y recaídas. Suele aparecer cierto grado de discapacidad física, normalmente tras varios años de evolución de la enfermedad. Las manifestaciones clínicas, como se ha mencionado anteriormente, son muy variadas, en función de la región cerebral afectada^{2, 3}.

Los síntomas iniciales de la enfermedad suelen ser, en la mayoría de los casos, los **trastornos visuales**, como la visión borrosa o doble, la distorsión de los colores (rojo-verde), o incluso la ceguera de un ojo. Estos trastornos son motivados por la inflamación del nervio óptico (neuritis óptica) y suelen desaparecer en etapas posteriores de la EM. Los **trastornos musculares** son las manifestaciones mayoritarias, y dentro de ellos, encontramos la miastenia o debilidad muscular, que aparece sobre todo en las extremidades, y se asocia con fatiga. Asimismo, puede producirse cierta espasticidad muscular, es decir, un aumento del tono muscular que provoca tensión y rigidez, y que puede llegar a resultar muy doloroso. Por otro lado, si la enfermedad afecta a áreas del cerebelo puede ocasionar trastornos en el habla, dificultad de coordinación y temblores, los cuales, junto con los anteriores, contribuyen a la aparición de uno de los signos más característicos de la EM: los **trastornos de la marcha**. Estos trastornos se presentan en el 50% de los pacientes y resultan muy limitantes en su vida cotidiana. Si son lo suficientemente intensos, pueden dificultar caminar, ponerse de pie y, en los peores casos, pueden producir una parálisis parcial (hemiplejía) o total. Las **alteraciones sensoriales** también son muy frecuentes; suelen iniciarse con síntomas como picor, hormigueo o entumecimiento de la punta de los dedos, y pueden acompañarse de dolor. En ciertos casos, por la afectación de determinados nervios craneales, pueden aparecer cefalea o alteraciones del sentido del gusto y la propiocepción. También pueden producirse **trastornos de la función vesical** (incontinencia urinaria) **e intestinal** (estreñimiento o diarrea). Las **alteraciones neurológicas**, con el deterioro cognitivo, se presentan en aproximadamente la mitad de los pacientes con EM,

y se manifiestan con dificultad de concentración, pérdida de memoria y deficiencias en el procesamiento de la información. Por último, pueden producirse **disfunciones sexuales**, como la dificultad para alcanzar el orgasmo, impotencia en el varón o falta de sensibilidad vaginal. Además, es importante destacar que todos estos síntomas producidos por la enfermedad pueden afectar al estado emocional del paciente, llegando a causarle depresión u otros trastornos psicóticos.

En la EM es muy importante el diagnóstico diferencial^{6, 7}, ya que existen muchas enfermedades que mimetizan las manifestaciones clínicas de la EM, por lo que es importante descartar que se trate de cualquier otra enfermedad neurológica. Una vez excluida esta posibilidad, el diagnóstico de la EM se basa en la demostración de la diseminación de lesiones desmielinizantes hacia distintas zonas del SNC⁷. Son de gran utilidad las pruebas de imagen cerebral, como la Resonancia Magnética Nuclear (RMN); esta prueba permite la identificación de las lesiones desmielinizantes en el cerebro y en la médula espinal (Figura 1). Aunque no es específica para el diagnóstico de la EM⁵, es la técnica sobre la cual hay una mayor evidencia de eficacia. Además, también permite monitorizar la actividad de la enfermedad, así como la respuesta del paciente al tratamiento⁷.

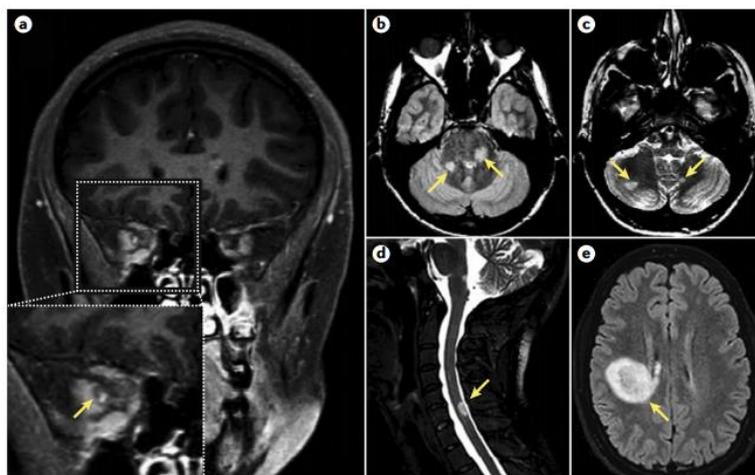


Figura 1: Imágenes de resonancia magnética nuclear (RMN) de un cerebro con distintos ejemplos de lesiones desmielinizantes (flechas amarillas). Imagen extraída de: Filippi, 2018⁷.

Otros métodos de diagnóstico son la neurofisiología o el análisis de líquido cefalorraquídeo mediante punción lumbar. En este último, un aumento del índice de inmunoglobulina G (IgG) o la presencia de bandas oligoclonales de IgG se consideran criterios indicativos de EM^{6, 7}. Asimismo, se suele recurrir al historial completo del paciente, a un examen físico y un examen neurológico. Para evaluar la severidad de la enfermedad, se realiza una evaluación funcional del paciente que mide el grado de deterioro o discapacidad. Para ello, existen varias escalas de valoración, siendo las más utilizadas la Escala Amplificada del Estado de Discapacidad o la Escala de Kurtzke.

1.3. Neuropatología de la EM

Como ya se ha sugerido anteriormente, la EM se ha descrito tradicionalmente como una enfermedad en dos fases: una fase inflamatoria responsable de los periodos de remitencia-recurrencia, y otra fase de neurodegeneración tardía que provoca la progresión continua de la enfermedad⁶. En la EM, el sistema inmunitario reacciona contra un elemento propio del organismo: la mielina. La mielina es un sistema multilaminar de membranas proteolípídicas que envuelve los axones a lo largo de todo el SNC, actuando como aislante eléctrico y aumentando la velocidad de transmisión del impulso nervioso a lo largo del axón. Está compuesta por fosfolípidos y proteínas, entre las cuales destaca la Proteína Básica de Mielina (PBM)^{2, 5}. También es importante destacar que el SNC está protegido por la barrera hematoencefálica (BHE), que en condiciones normales impide la entrada de leucocitos hacia su interior, otorgando un estado de inmunidad privilegiado. La BHE está formada por células endoteliales que exhiben uniones estrechas y una baja expresión de moléculas de adhesión celular, lo cual reduce la permeabilidad a los componentes celulares². Si bien la etiología y patogénesis de la enfermedad siguen siendo desconocidas, una de las hipótesis afirma que el sistema inmunitario actúa frente a la mielina debido a la exposición previa a ciertos virus (como, por ejemplo, el virus de Epstein-Barr^{7, 8}) o a antígenos externos que poseen cadenas proteicas muy similares a la PBM, de forma que se produce una reacción cruzada entre ambas.

En las recaídas de la EM, que son más frecuentes en las primeras fases de la enfermedad, se produce la infiltración en el parénquima del SNC de células del sistema inmunitario innato y adaptativo, como las células T CD4⁺ y T CD8⁺, las células B y las células mieloides, que se acumulan en la zona perivascular alrededor de las vénulas post-capilares de la BHE^{7, 9}. Las células T CD4⁺ habiendo reconocido al antígeno, se diferencian en células Th₁ y Th₁₇, las cuales secretan citoquinas proinflamatorias como la interleuquina 17 (IL-17), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el interferón gamma (IFN- γ), todas implicadas en la destrucción de las vainas de mielina que recubren los axones^{2, 7, 9}. Las células de la microglía fagocitan la mielina y secretan quimiocinas, como la CCL-2, que favorecen la extravasación de leucocitos hacia el SNC². Por su parte, las células B secretan anticuerpos anti-PBM que contribuyen a la amplificación de la respuesta inmunitaria frente a la mielina. También atraen y activan a las células T y a las células de la microglía, favoreciendo sus funciones neurodegenerativas. Además, se ha visto que las células B en pacientes con EM tienen una gran capacidad para producir citoquinas proinflamatorias, siendo deficientes en la producción de citoquinas antiinflamatorias^{7, 9}. Esta alteración del equilibrio entre la respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria podría contribuir a explicar los periodos de remitencia-recurrencia de la enfermedad. El resultado de esta fase de la EM es la degradación de las vainas de mielina, que se alterna con periodos de remitencia, en los que los astrocitos y oligodendrocitos consiguen regenerar parte de la mielina perdida. Sin embargo, estos periodos se acortan con el paso de los años, hasta que la gran acumulación perivascular de células inmunitarias conduce a la disfunción de los astrocitos y oligodendrocitos^{7, 10}.

Comienza entonces la fase progresiva de la enfermedad, en la cual la infiltración de células inmunitarias en el SNC se reduce y diversos mecanismos intervienen en la neurodegeneración axonal. Las células T CD8⁺ ejercen un efecto citotóxico sobre las neuronas llevado a cabo por dos mecanismos distintos: 1) la secreción de gránulos líticos con perforinas y granzimas, que producen la ruptura de la membrana celular y la apoptosis neuronal, y 2) la producción de IFN- γ y TNF- α . El IFN- γ produce la muerte neuronal por excitotoxicidad, es decir, por acumulación de glutamato en el interior de la

neurona, mientras que el TNF- α destruye la mielina y altera tanto la estructura como la función de la membrana neuronal, induciendo su apoptosis⁹. Además, las células de la microglía producen un exceso de óxido nítrico (NO) y especies reactivas de oxígeno (ROS), dando lugar al estrés oxidativo¹¹. El estrés oxidativo reduce la actividad mitocondrial de las neuronas, dando lugar a una situación de déficit energético y estrés metabólico que conduce a su muerte^{9, 11}.

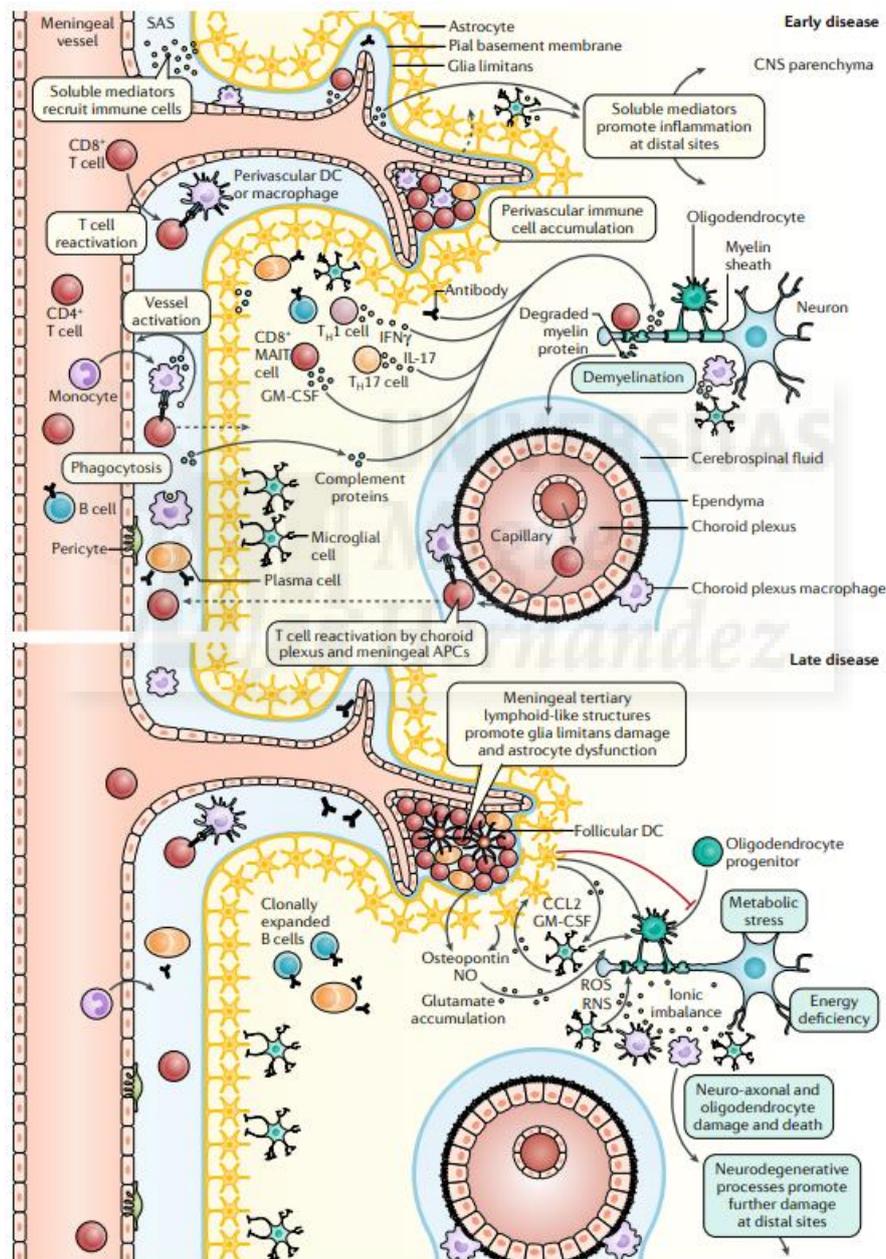


Figura 2: Esquema de los mecanismos implicados en la neuropatología de la EM, tanto en la fase de remitencia-recurrencia (*early disease*) como en la fase progresiva (*late disease*). Imagen extraída de: Filippi, 2018⁷.

La fase progresiva de la EM se caracteriza por procesos neurodegenerativos que conducen a la pérdida de oligodendrocitos, provocando un aumento de la desmielinización y, con ello, daño axonal y muerte neuronal⁹. Con el tiempo, las lesiones se van extendiendo progresivamente a zonas más distales del SNC. La Figura 2 resume todo lo mencionado anteriormente acerca de la neuropatología de la EM.

De este modo, la EM empieza con una destrucción de las vainas de mielina, cuya principal consecuencia es la reducción de la velocidad de conducción de los impulsos nerviosos, o incluso la no-transmisión de dichos impulsos, dando lugar a los síntomas característicos de la enfermedad. Con el paso de los años, la neurodegeneración progresiva en el SNC conduce a una acumulación de discapacidad permanente en el paciente.

1.4. Tratamiento actual de la EM

Actualmente, la EM es una enfermedad que no tiene cura. Sin embargo, en las últimas décadas se han introducido grandes avances en la terapéutica con la aparición de nuevos fármacos aprobados para el tratamiento de esta enfermedad. Los tratamientos farmacológicos actuales son útiles para aliviar la sintomatología y ralentizar el avance de la enfermedad¹. Sus objetivos son reducir la gravedad y la frecuencia de las recaídas, para contrarrestar sus efectos clínicos [1], limitar la discapacidad persistente y su progresión [2], alivio de la sintomatología [3] y promover la reparación tisular [4]^{5, 7}. Asimismo, adquiere importancia el tratamiento no farmacológico, que se divide en tratamiento de rehabilitación física (sesiones de fisioterapia y terapia ocupacional) y rehabilitación neuropsicológica (atención psicológica, logopedia). Ambos buscan mejorar la capacidad motora de los pacientes, y con ello, su calidad de vida⁵. La farmacoterapia de la EM se aborda desde tres perspectivas: tratamiento de la fase aguda con glucocorticoides para reducir la gravedad del brote (1), tratamiento modificador de la enfermedad (2) y tratamiento sintomático (3).

El **tratamiento de la fase aguda** se lleva a cabo con glucocorticoides^{5, 8}, como la metilprednisolona o la prednisolona. Estos fármacos ejercen un efecto antiinflamatorio, por lo que reducen la inflamación, la intensidad y la duración de

la fase aguda¹². Sin embargo, no son capaces de frenar la progresión de la enfermedad.

El **tratamiento modificador de la enfermedad** se divide en tratamiento inmunomodulador y tratamiento inmunosupresor. Los fármacos inmunomoduladores se utilizan en las formas remitente-recurrente y progresiva secundaria, pero no tienen efecto en la progresiva primaria⁵. Los más empleados son el interferón beta (IFN- β) y el acetato de glatirámero. El IFN- β es una proteína que podría actuar modulando la activación del sistema inmunitario, reduciendo así la actividad de células efectoras inmunitarias y aumentando la actividad supresora mediada por células T; destacan sus efectos adversos de tipo gripal (dolor muscular, fiebre, cefalea, astenia)¹². El acetato de glatirámero es una mezcla de péptidos sintéticos que podría actuar mimetizando la PBM, provocando así una inducción de los linfocitos T supresores e inhibición del efecto de los antígenos anti-mielina del SNC^{2, 5}, y también actúa sobre las células dendríticas, que son presentadoras de antígenos. Produce reacciones adversas en el lugar de la inyección (eritema, dolor e inflamación, tumefacción, prurito, edema e hipersensibilidad), pero es bien tolerado. Otros dos fármacos inmunomoduladores que también se utilizan en el tratamiento de la EM son el fingolimod y el dimetilfumarato. El fingolimod es un fármaco de administración oral que actúa como antagonista del receptor 1 de la esfingosina-1-fosfato (S1P1). Este receptor se localiza en la superficie de los linfocitos, así como en neuronas, oligodendrocitos y astrocitos¹³. La unión del fingolimod a este receptor se traduce en el bloqueo de la salida de los linfocitos de los órganos linfoides y, con ello, en la reducción de su infiltración en el SNC^{13, 14}. Tiene un perfil complejo de efectos adversos (linfopenia, edema macular, lesiones cutáneas precancerosas, hipotensión y bradicardia), además de potencial teratógeno. Por su parte, el dimetilfumarato es un profármaco de administración oral que se hidroliza en su metabolito activo, el monometilfumarato, al alcanzar el intestino delgado¹⁵. Ejerce un efecto antiinflamatorio, inmunomodulador y neuroprotector al activar la vía del factor eritroide-2, que protege frente al daño oxidativo intracelular^{12, 15}. A diferencia del fingolimod, su perfil toxicológico es tolerable,

con efectos adversos gastrointestinales, citopenias, elevación de enzimas hepáticas y rubefacción⁶.

Por su parte, el tratamiento inmunosupresor supone un abordaje eficaz para la EM progresiva primaria⁵. Dentro de este grupo se engloban los **anticuerpos monoclonales** (natalizumab, alemtuzumab, ocrelizumab). El natalizumab actúa inhibiendo selectivamente las moléculas de adhesión, uniéndose a la subunidad α_4 de las integrinas humanas, de modo que evita la penetración de leucocitos al SNC inflamado, lo cual facilita la reducción de la inflamación y de las lesiones neurológicas asociadas a la EM¹⁶. Tiene un perfil toxicológico bien tolerado, con reacciones adversas como mareos, náuseas, urticaria y temblores, así como cierto riesgo de producir leucoencefalopatía multifocal progresiva⁵. Por su parte, el alemtuzumab actúa uniéndose de forma específica a la glucoproteína CD52⁶, presente en la membrana de linfocitos B y T, que conlleva a la citólisis celular y, con ello, a una depleción de la población de linfocitos B y T, limitando su efecto sobre la mielina². Presenta una alta incidencia de eventos de tipo autoinmune tiroideos, trombocitopénicos y renales, así como eventos cardiovasculares. El ocrelizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado de segunda generación que actúa de forma selectiva contra linfocitos B que expresan el antígeno de superficie CD20 (a través de la inducción de la fagocitosis, de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y de la apoptosis), atenuando su efecto sobre la mielina^{14, 16}. Tiene un perfil de seguridad similar al de otros anticuerpos monoclonales, destacando reacciones relacionadas con la perfusión e infecciones urinarias y del tracto respiratorio superior¹⁴. Otro fármaco utilizado en el tratamiento inmunosupresor es la clabidrina. Se trata de un fármaco que actúa como antimetabolito de la adenosina, afectando selectivamente al sistema inmune adaptativo ya que produce un efecto prolongado dirigido a los linfocitos y a los procesos que intervienen en la fisiopatología de la EM. Como efectos adversos destacan linfocitopenia y la aparición de herpes zóster^{6, 14}.

El **tratamiento sintomático** es complementario al tratamiento de la EM, ya que su objetivo es paliar los síntomas producidos por la enfermedad, y dependerá de los síntomas que aparezcan en cada paciente. Por ejemplo, para

los trastornos de la marcha se emplea la fampridina, un antagonista de los canales de potasio dependientes de voltaje que prolonga la repolarización e intensifica el potencial de acción, de modo que puede mejorar este tipo de síntomas en pacientes respondedores⁵. La espasticidad o rigidez muscular se trata con miorrelajantes de acción central (diazepam, tiazinidina, baclofeno), que reducen el tono muscular, o con fármacos útiles en el dolor neuropático fruto de la debilidad y los espasmos musculares (gabapentina, pregabalina o carbamazepina). Otro medicamento autorizado para el tratamiento de la espasticidad moderada a grave en pacientes con EM es el Sativex^{5, 6}. Se trata de un extracto de *Cannabis Sativa* que contiene tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) en proporción 1:1. Su acción sobre los receptores cannabinoides CB1 y CB2 reduce la rigidez de las extremidades y mejora la función motora, proporcionando un efecto antiespástico.

La siguiente tabla (Tabla 1) muestra un resumen de los tratamientos mencionados y sus características básicas.

Tratamiento		Fármacos		Efecto Farmacológico (EF) y Reacciones Adversas (RA)	
Fase aguda		Glucocorticoides	Metilprednisolona	Efecto antiinflamatorio: reducen la inflamación, la intensidad y la duración de la fase aguda.	
			Prednisona		
Modificador	Inmunomodulador (formas recidivante-remite y progresiva secundaria)	Interferón beta		Reduce actividad de células efectoras inmunitarias y aumenta actividad supresora de células T. RA: de tipo gripal (fiebre, dolor muscular, cefalea, astenia)	
		Acetato de glatirámico		Mimetiza la PBM: induce a los linfocitos T supresores e inhibe el efecto de antígenos anti-mielina del SNC. RA: Eritema, dolor e inflamación, tumefacción, prurito, edema e hipersensibilidad en zona de inyección.	
		Fingolimod		Antagonista del receptor 1 de la esfingosina-1-fosfato localizado en la superficie de los linfocitos RA: Linfopenia, edema macular, lesiones cutáneas precancerosas, hipotensión, bradicardia y potencial teratogénico.	
		Dimetil fumarato		Activación de la vía del factor eritroide-2, protege frente al daño oxidativo intracelular. RA: Gastrointestinales, citopenias, elevación de enzimas hepáticas y rubefacción	
	Inmunosupresor (en forma progresiva primaria)	Anticuerpos monoclonales	Natalizumab	Unión a la subunidad α , de las integrinas humanas. RA: Mareos, náuseas, urticaria y temblores asociados a perfusión. Riesgo de leucoencefalopatía multifocal progresiva	
			Alemtuzumab	Unión específica a glucoproteína CD52 en membrana de linfocitos B y T RA: Eventos de tipo autoinmune y eventos cardiovasculares	
			Ocrelizumab	Acción selectiva contra linfocitos B que expresan el antígeno de superficie CD20. RA: Picor, erupción cutánea, taquicardia, cefalea e infecciones de tracto respiratorio superior.	
		Cladribina		Antimetabolito de la adenosina. RA: Linfocitopenia, herpes zóster.	
	Sintomático		Fampridina		Antagonista canales de potasio dependientes de voltaje
			Diazepam, tiazinidina, baclofeno		Miorrelajantes de acción central.
Gabapentina, pregabalina, carbamazepina			Antiepilépticos con utilidad en tratamiento del dolor neuropático.		
Sativex (tetrahidrocannabinol y cannabidiol 1:1)			Agonista de receptores cannabinoides CB1 y CB2.		

Tabla 1: Resumen de los distintos tratamientos actuales de la EM y sus características básicas.

1.5. Interés de la neuroprotección en la EM

Se define la neuroprotección como la activación de una serie de procesos esenciales para la supervivencia, diferenciación y funcionamiento neuronales¹. Por tanto, una terapia neuroprotectora es aquella que tiene efectos beneficiosos en la preservación del tejido y funciones del SNC frente a las enfermedades neurodegenerativas, mediante la prevención del daño axonal, neuronal y oligodendrocítico^{7, 17}. La Figura 3 muestra algunas de las dianas para el desarrollo de estrategias neuroprotectoras. Otro punto importante son las estrategias neuroreparadoras o neuroregeneradoras, basadas en la remielinización axonal. Este fenómeno es mediado por las células precursoras de oligodendrocitos (CPO), tras diferenciarse en oligodendrocitos con la capacidad de reemplazar la mielina de los axones, lo cual permite la restauración de la conducción neuronal¹⁰.

Los fármacos disponibles actualmente en el tratamiento de la EM aportan ciertos efectos neuroprotectores. Sin embargo, a pesar de las bondades tanto de los fármacos inmunomoduladores como de los inmunosupresores a la hora de frenar la EM, ambos siguen presentando limitaciones a la hora de pararla o incluso revertirla. Esto se debe a que muchos de ellos se centran en un único aspecto de la enfermedad, siendo más interesante que los tratamientos fuesen multifacéticos, limitando tanto los factores que contribuyen a la inflamación como a la neurodegeneración, como pueden ser el estrés oxidativo y el daño mitocondrial¹⁷. Asimismo, otro aspecto a tener en cuenta es la remielinización, y la necesidad de terapias que la promuevan, ya que el efecto a este nivel de muchos de los fármacos inmunomoduladores e inmunosupresores es escaso. Además, estos fármacos pueden producir efectos adversos significativos, lo cual limita su dosificación y compromete su eficacia en el tratamiento de la enfermedad^{1, 14}. Todo esto pone de manifiesto que a día de hoy es vital dar un paso más allá en el tratamiento de la EM, cuyo objetivo actual es el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas neuroprotectoras y neuroregeneradoras que marquen la diferencia respecto a los tratamientos actuales de la enfermedad, pudiendo ralentizarla, pararla o incluso revertirla, mejorando así la calidad de vida del paciente. En este trabajo se realizará una revisión bibliográfica acerca

de las estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras en el tratamiento de la EM para valorar el estado actual de la materia y los beneficios que pueden aportar a la evolución clínica de estos pacientes.

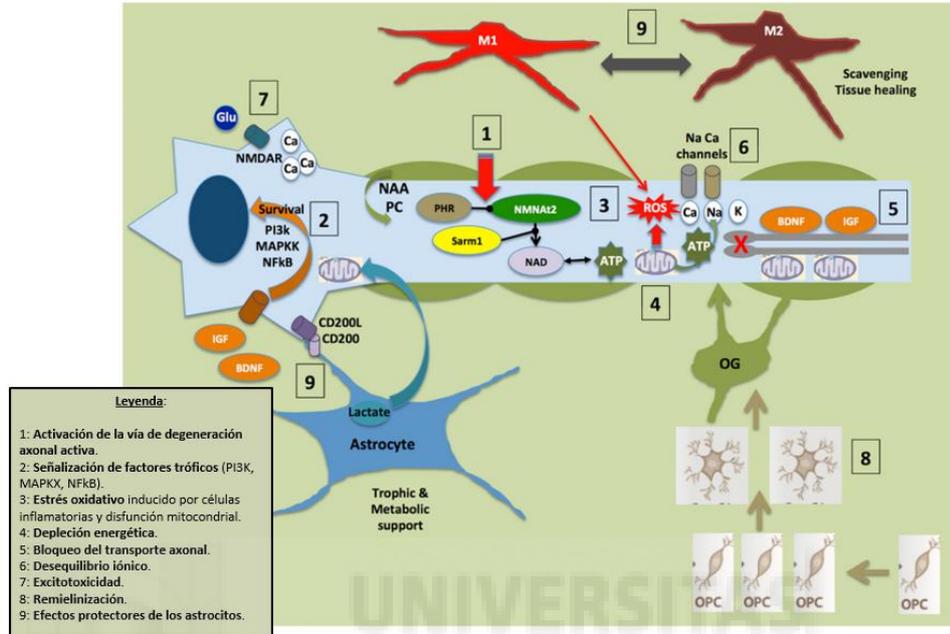


Figura 3: Dianas para el desarrollo de estrategias neuroprotectoras en el tratamiento de la EM. Imagen de Villoslada, 2016¹⁷.

2. OBJETIVOS

- **Objetivo general del trabajo:** realizar una revisión bibliográfica acerca de estudios preclínicos y clínicos que tratan sobre las estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras en el tratamiento de la EM.
- **Objetivos específicos:**
 - Revisión de artículos publicados acerca de las dianas terapéuticas para el desarrollo de estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la EM:
 - Estrés oxidativo
 - Neuroinflamación
 - Producción de factores neurotróficos
 - Excitotoxicidad glutamatérgica
 - Estrés del retículo endoplasmático
 - Revisión de artículos publicados acerca de las estrategias farmacológicas neuroreparadoras en el tratamiento de la EM.
 - Inhibición dual de la PDE-7 y GSK-3
 - Promoción de la expresión de factores de transcripción de oligodendrocitos Olig1 y Olig2
 - Promoción de la expresión de la proteína NG2
 - Modulación del receptor estrogénico
 - Inducción de la apoptosis en la microglía

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología empleada para esta revisión se ha basado en la realización de una búsqueda bibliográfica en la base de datos biomédica *Medline* a través de su buscador *PubMed*. La búsqueda se ha realizado en inglés, al ser éste el idioma dominante en el campo de la medicina.

Las palabras clave utilizadas fueron Neuroprotección y Esclerosis Múltiple. Sin embargo, para realizar la búsqueda fue necesaria la conversión de ésta última a descriptor, ya que los descriptores actúan como lenguaje único de indización y permiten centrar la búsqueda en un concepto determinado y acotar los resultados. Para ello, se empleó la base de datos “DeCS” (Descriptores en Ciencias de la Salud). Una vez dentro de la página, se accede a la opción de “Consulta al DeCS” y se busca la palabra clave en índice permutado. Tras encontrar el descriptor se comprueba su significado y se obtiene su equivalente en inglés, denominado *Medical Subject Heading* (MeSH), que se utilizará posteriormente para realizar la búsqueda en *PubMed*.

Palabra Clave	DeCS	MeSH
Esclerosis Múltiple	Esclerosis Múltiple	Multiple Sclerosis

En el buscador PubMed se utilizó el término MeSH “Multiple Sclerosis” junto con “Neuroprotection”, y se añadió el operador booleano AND con la finalidad de conectar los dos términos y mostrar únicamente los resultados que contengan ambos términos de búsqueda especificados, independientemente del orden y de su posición relativa, aumentando la sensibilidad y especificidad de la búsqueda. Además, se empleó el filtro “en los últimos 5 años”, ya que el interés por las estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras en el tratamiento de la EM es relativamente reciente, por lo que se decidió acotar la búsqueda de literatura científica a aquellos trabajos más actuales. La caja de búsqueda empleada en el trabajo fue **(“Multiple Sclerosis” [Mesh]) AND (neuroprotection) Filters: in the last 5 years.**

Por otro lado, los criterios de inclusión y exclusión aplicados para seleccionar las referencias manejadas posteriormente fueron los siguientes:

- Criterios de inclusión:
 - Se aceptan los artículos publicados en los últimos 5 años centrados en la temática de estudio.
 - Se aceptan artículos originales de carácter preclínico o clínico relacionados con las estrategias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras en el tratamiento de la EM.
 - Se aceptan revisiones sistemáticas o meta-análisis recientes relacionados con el tema de estudio.
- Criterios de exclusión:
 - No se aceptan artículos no escritos en lengua inglesa o española.
 - No se aceptan artículos que no se centren en la temática del trabajo.

La figura que se muestra a continuación (Figura 4) recoge el procedimiento seguido para realizar la búsqueda y la selección de los artículos obtenidos, aplicando los criterios de inclusión y exclusión descritos anteriormente.

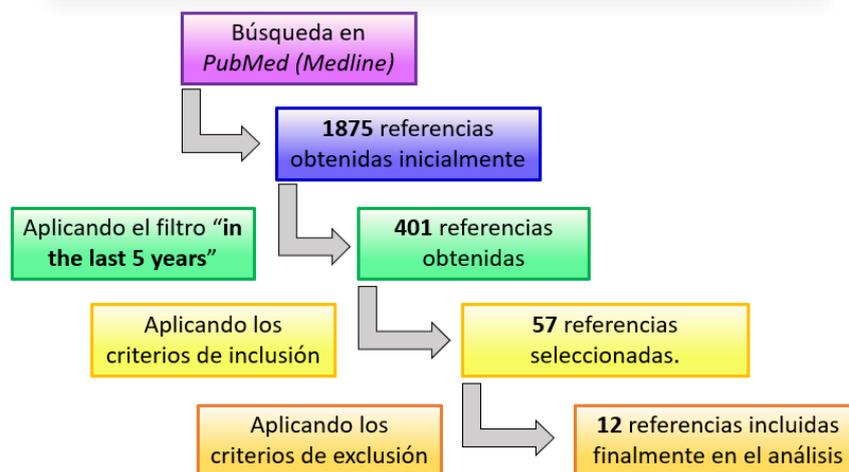


Figura 4: Representación gráfica del algoritmo seguido para el cribado y la selección de las referencias bibliográficas que finalmente se han analizado en el presente trabajo.

4. RESULTADOS

En este apartado se evaluará las distintas estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la EM. Para ello, se dividirán los resultados en dos grandes bloques: el primero de ellos versará sobre los abordajes farmacológicos de tipo neuroprotector (bloque 4.1), mientras que el segundo se basará en el abordaje farmacológico neuroreparador, centrado principalmente en la remielinización axonal (bloque 4.2).

4.1. Estrategias farmacológicas neuroprotectoras

Este primer bloque se dividirá en las distintas dianas que podrían constituir potenciales estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la EM (Tabla 5).

4.1.1. Estrés oxidativo

Existe una gran evidencia respecto a la implicación del estrés oxidativo en la fisiopatología de la EM. La modulación del estrés oxidativo es por tanto una de las estrategias farmacológicas con potencial neuroprotector. Uno de los trabajos acerca de esta estrategia es el publicado por Ghaiad y cols¹⁸. En él, se utilizaron ratones macho C57BL/6, que fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos a los que se realizaron distintas intervenciones (ver Tabla 2).

Grupo	Intervención
CI: Intoxicado con cuprizona	Dieta con 0,7% p/p de cuprizona mezclado con pienso durante 7 días, 3 semanas con una dieta con 0,2% de cuprizona y 250mg/Kg de PBS (<i>Phosphate Buffered Saline</i>) oral una vez al día
RT: tratado con resveratrol	Dieta con 0,7% p/p de cuprizona mezclado con pienso durante 7 días, seguido de 3 semanas con una dieta con 0,2% de cuprizona y 250mg/Kg de resveratrol oral disuelto en PBS una vez al día
RC: resveratrol control	Dosis diaria de 250mg/Kg de resveratrol vía oral
NC: control normal	Dosis diaria de PBS oral

Tabla 2: Resumen de la asignación de los ratones a los diferentes grupos experimentales en el estudio de Ghaiad y cols.¹⁸.

La cuprizona es una sustancia con capacidad quelante de cobre que induce una desmielinización no autoinmune, caracterizada por alteraciones en el metabolismo energético que producen la muerte de oligodendrocitos. La intoxicación por cuprizona produjo alteraciones a nivel de la función mitocondrial, destacando una disminución de la actividad de la enzima citocromo oxidasa cerebral (COX) y una disminución de los niveles de ATP. El estudio demostró que el resveratrol, un compuesto polifenólico con capacidad antioxidante, antiinflamatoria y neuroprotectora, fue capaz de aumentar la actividad de la enzima COX y los niveles de ATP, devolviéndolos a valores cercanos a los del grupo NC (Figura 5).

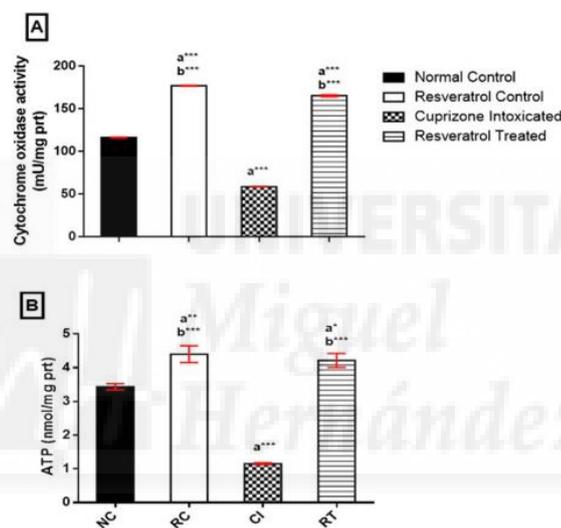


Figura 5: Efecto del resveratrol en los cambios inducidos por la cuprizona en la función mitocondrial cerebral. Gráficas mostrando la actividad COX (A) y los niveles de ATP (B) en los distintos grupos del estudio. Imagen extraída de: Ghaiad et al, 2016¹⁸.

Otro artículo que evalúa el efecto del estrés oxidativo sobre la función mitocondrial es el de Martin-Montañez y cols.¹⁹, cuyo objetivo es demostrar que el metabolito activo del fingolimod (fosfato de fingolimod, FF), ejerce un efecto neuroprotector al regular el estrés oxidativo mitocondrial. En este trabajo se realizaron 3 cultivos con células dopaminérgicas del linaje SN4741 provenientes de la sustancia negra de ratones (ver Tabla 3), a los cuales se administra menadiona (Vitk3), un compuesto que genera un cuadro de estrés oxidativo, el cual altera la función mitocondrial.

Cultivo	Intervención
Control	Cultivo en condiciones normales.
Vitk3	Vitk3 al 15µM.
Vitk3+FF	Vitk3 al 15µM + FF al 50nM.

Tabla 3: Resumen de los distintos cultivos realizados en el estudio de Martin-Montañez y cols.¹⁹.

La alteración mitocondrial inducida por la Vitk3 produjo una reducción en el nivel de actividad COX en comparación con el grupo control. Esto a su vez se traduce en un descenso dramático del consumo de oxígeno por parte de las mitocondrias, ya que la COX consume la mayor parte del oxígeno en la cadena respiratoria. La co-incubación con FF contrarresta la reducción de la actividad COX y la disminución del consumo de oxígeno, devolviéndolos a valores cercanos a los del grupo control, lo cual indica que el FF promueve la recuperación de la función mitocondrial frente al daño oxidativo.

Además, Martin-Montañez y cols.¹⁹ evaluaron el efecto del FF sobre la disminución de la expresión del factor de transcripción Nrf-2 producida por la Vitk3. En la Figura 6 se puede observar que la co-incubación con FF revierte el efecto de la Vitk3, aumentando la expresión del factor Nrf-2 por encima de los valores obtenidos para el cultivo control. El factor de transcripción Nrf-2 está implicado en la respuesta frente al estrés oxidativo celular donde, entre otras funciones, regula la expresión de enzimas antioxidantes, como la hemoxigenasa-1 (HO1) y la tioredoxina (Trx2). En ambos casos, la expresión se ve reducida en presencia de Vitk3 y, del mismo modo, se restaura en presencia de FF (ver Figura 6), lo cual demuestra que el FF ejerce un efecto antioxidante y neuroprotector.

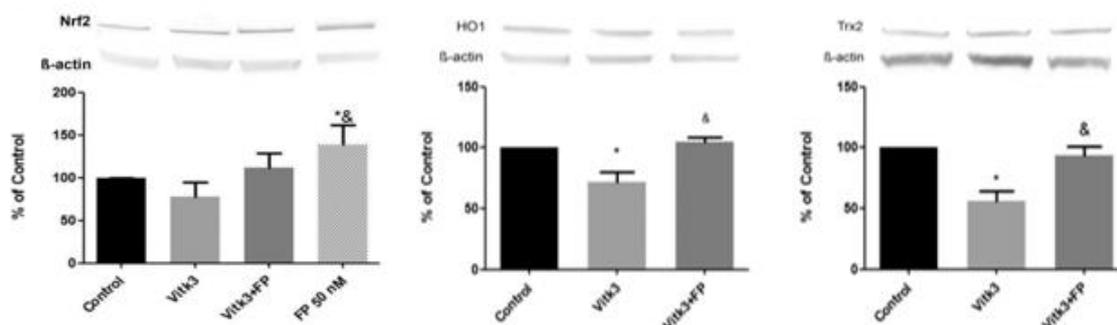


Figura 6: Gráficas de los niveles de expresión de Nrf-2 (a), HO1 (b) y Trx2 (c) en el cultivo control, en presencia de Vitk3 y en presencia de Vitk3 y FF. Imágenes extraídas de: Martin-Montañez, 2019 ¹⁹.

La modulación del estrés oxidativo como estrategia neuroprotectora también se evalúa en el trabajo de Yu y cols.²⁰. En él, se demuestra que la inhibición de la mieloperoxidasa, una potente enzima oxidante liberada por las células mieloides, reduce el daño provocado por la Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE). La EAE es un modelo experimental de EM que reproduce varios signos y síntomas de esta enfermedad: inflamación, desmielinización, pérdida axonal y gliosis²¹. Su principal diferencia con la EM es que requiere una inmunización externa para desarrollarse, y se distinguen dos tipos. La EAE reactiva se basa en la inmunización del animal con un autoantígeno para inducir la activación de células T reactivas, mientras que la EAE pasiva se basa en la transferencia de células T autorreactivas a un animal innato. Los agentes químicos que se suelen utilizar son la PBM, la glicoproteína oligodendroglial de la mielina (MOG) y el péptido de la proteína proteolipídica (PLP). Este modelo experimental se utiliza para estudiar los mecanismos relacionados con la neuroinflamación y la respuesta inmune, pero también puede emplearse en el estudio de los procesos de desmielinización-remielinización. De este modo, la EAE permite avanzar en el conocimiento de la EM y en la búsqueda de terapias específicas y efectivas para tratar la enfermedad²¹.

El estudio de Yu y cols.²⁰ demostró que los niveles de mieloperoxidasa en la médula espinal aumentaron en los ratones con EAE, pero la administración de N-acetil lisiltirosilcisteína amida (KYC), un inhibidor de esta enzima, consiguió reducir estos niveles (ver Figura 7). Para comprobar si la reducción de los niveles y la actividad de la mieloperoxidasa conlleva una reducción de la oxidación mediada por esta enzima, Yu y cols. analizaron los niveles de ClTyr, un marcador específico de la oxidación mediada por la mieloperoxidasa. El resultado obtenido fue un aumento de los niveles de ClTyr en los ratones con EAE en comparación con los ratones control. La administración de KYC redujo los niveles de ClTyr (ver Figura 7), por lo que se deduce que este compuesto reduce el estrés oxidativo mediado por la mieloperoxidasa.

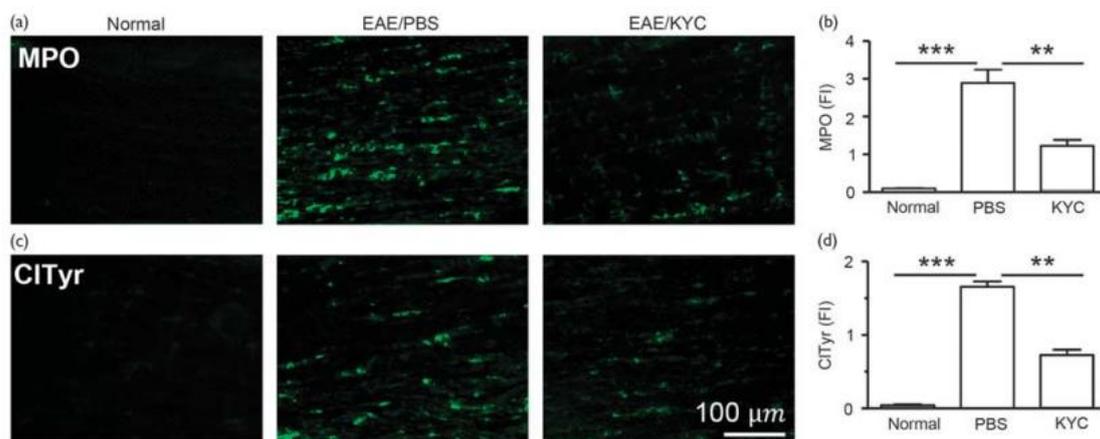


Figura 7: Efecto del KYC sobre el estrés oxidativo en ratones con EAE. Inmunotinción de secciones de médula espinal de ratones tras 70 días desde la inducción de EAE con un anticuerpo frente a la mieloperoxidasa (a) y frente a la CITyr (b). Las gráficas b y d muestran el resultado del análisis de la intensidad de la fluorescencia de a y c respectivamente. Imagen extraída de: Yu, 2017²⁰.

4.1.2. Neuroinflamación

La inflamación en el SNC es uno de los principales responsables de la neurodegeneración en la EM. En esta enfermedad se produce una reacción inflamatoria autoinmune mediada por las células inmunitarias del organismo. Por ello, la modulación de la neuroinflamación es otra estrategia que puede ofrecer efectos neuroprotectores. Siguiendo esta línea, Mansilla y cols.²² realizaron un estudio acerca del dimetilfumarato y su capacidad de ejercer un efecto antiinflamatorio en pacientes con EM remitente-recurrente. Se realizó el análisis de muestras sanguíneas de los pacientes, tomadas en el primer, tercer, sexto y duodécimo mes de tratamiento con dimetilfumarato, con el objetivo de evaluar los cambios en las distintas subpoblaciones de linfocitos. Se observó que el tratamiento con dimetilfumarato redujo el número total de linfocitos; asimismo, se observó una reducción del porcentaje de linfocitos T CD4⁺ de memoria central y efectora, y en mayor medida de los linfocitos T CD8⁺ de memoria central y efectora. Este descenso se acompaña en ambos casos de un aumento de las células T innatas CD4⁺ y CD8⁺.

Por otro lado, el tratamiento con este fármaco produce una disminución de las células B de memoria, acompañada de un aumento de las células B innatas. Otro hallazgo de Mansilla y cols. fue que el dimetilfumarato redujo la

población de linfocitos Th₁₇ de tipo Th₁ de memoria central y de memoria efectora entre los 6 y 12 meses de tratamiento. Este tipo de linfocitos son células Th₁₇ con características de Th₁, que producen IFN- γ (Th₁) y citoquinas proinflamatorias. Finalmente, Mansilla y cols. observaron que el dimetilfumarato también cambia el balance entre células *Natural Killer* (NK) citotóxicas y reguladoras. Los resultados muestran una reducción del porcentaje de células NK citotóxicas circulantes, mientras que el porcentaje de células NK reguladoras aumenta. Se piensa que estas células NK reguladoras podrían estar detrás de la reducción de la población de linfocitos Th₁₇ de tipo Th₁ de memoria efectora.

Otro artículo que evalúa el efecto neuroprotector de las estrategias antiinflamatorias es el de Sánchez-López y cols.²³. En este trabajo, se analiza el efecto de la melatonina sobre la producción de citoquinas proinflamatorias. El estudio se llevó a cabo en pacientes con EM remitente-recurrente en tratamiento con IFN- β , que fueron divididos en dos grupos: el primer grupo (melatonina) recibió una dosis de 25mg al día de Esteroidal (melatonina) y el segundo (Control) recibió placebo. El resultado obtenido fue que la administración diaria de 25mg de melatonina redujo los niveles en suero de las citoquinas proinflamatorias IL-1 β e IL-6 a partir del tercer mes de tratamiento, y de TNF- α a partir del sexto mes (ver Figura 8) en comparación con el grupo control. Existen varios mecanismos que podrían explicar el efecto antiinflamatorio de la melatonina. Uno de ellos es su capacidad de inducir la producción de linfocitos Th₂ y citoquinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10, lo cual inhibe la función de las células Th₁. Además, la melatonina también regula el equilibrio entre las células Th₁₇ y las células T reguladoras, aumentando el efecto de estas últimas, lo cual limita el desarrollo de la EAE. La melatonina también reduce la producción de citoquinas proinflamatorias mediante la unión al NF- κ B, impidiendo su traslocación al núcleo e inhibiendo la síntesis de la enzima oxidante óxido nítrico sintasa inducible, así como la síntesis de citoquinas, ciclooxigenasas y moléculas de adhesión²³. Con todo lo anterior, se demuestra que la melatonina ejerce un efecto antiinflamatorio que podría mejorar el curso de la EM.

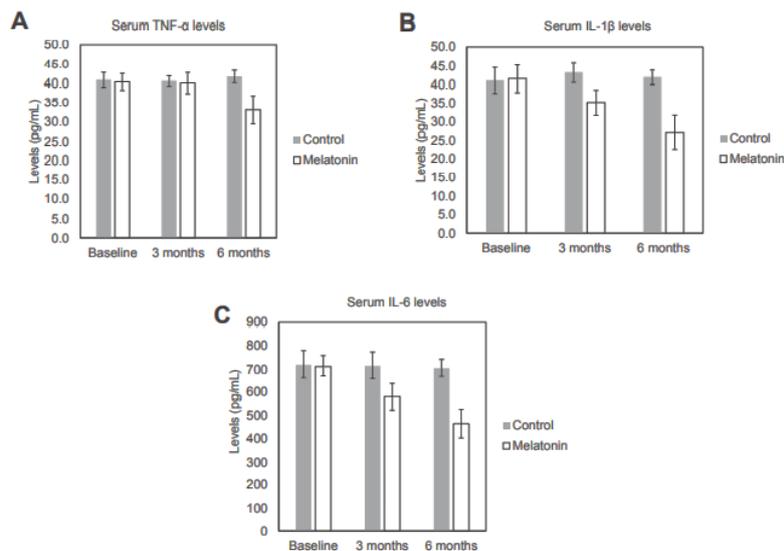


Figura 8: Gráficas representando los niveles en suero de citoquinas proinflamatorias: TNF- α (A), IL-1 β (B) e IL-6 (C) en pacientes con EM remitente-recurrente. Imagen extraída de: Sánchez-López, 2018²³.

4.1.3. Factores neurotróficos

El incremento de la producción de factores neurotróficos es una de las estrategias farmacológicas con potencial neuroprotector frente a enfermedades neurodegenerativas como la EM. Un estudio que aborda este aspecto es el de Golan y cols.²⁴, evaluando cómo el fingolimod podría ejercer un efecto neuroprotector en pacientes con EM remitente-recurrente mediante la producción del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro o BDNF (del inglés *Brain-Derived Neurotrophic Factor*). El BDNF es una neurotrofina involucrada en la supervivencia, diferenciación y función neuronal. En este trabajo *in vitro* se analizan cultivos de sobrenadantes de células T no estimuladas, monocitos no estimulados y de PBMCs (células mononucleares de sangre periférica) no estimuladas, con el objetivo de evaluar los niveles de BDNF al inicio del tratamiento con fingolimod, a los 6 meses y a los 12 meses. El resultado obtenido fue que el tratamiento con fingolimod aumentó la secreción de BDNF por parte de células T, monocitos y PBMCs, siendo el aumento más notable en las primeras (ver Figura 9). Por tanto, el tratamiento con fingolimod induce a la producción de BDNF y, con ello, ejerce un efecto neuroprotector que favorece la supervivencia neuronal.

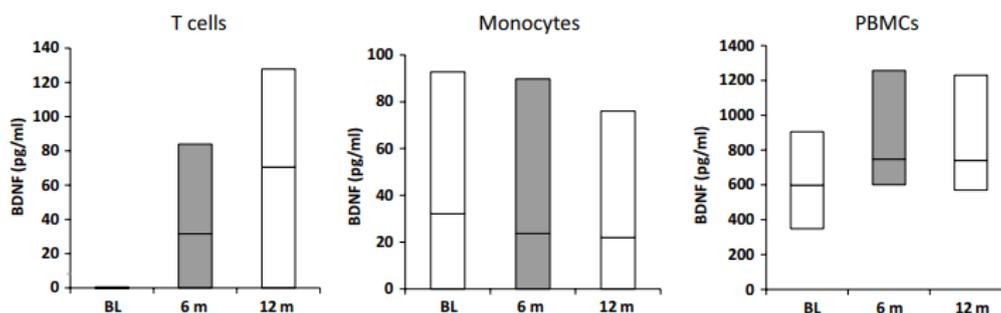


Figura 9: Gráficas mostrando los niveles de expresión del BDNF en células T, monocitos y PBMCs al inicio del tratamiento con fingolimod, a los 6 meses y a los 12 meses. Evaluación llevada a cabo mediante ELISA. Imagen extraída de: Golan, 2019²⁴.

4.1.4. Excitotoxicidad glutamatérgica

La excitotoxicidad mediada por el aumento de la liberación de glutamato incrementa los niveles de actividad eléctrica y energética en las neuronas, lo cual conduce a un desequilibrio iónico que promueve la muerte neuronal^{1, 17}. Un estudio acerca del potencial de la modulación de la excitotoxicidad como terapia neuroprotectora en el tratamiento de la EM es el de Luchtman y cols.²⁵. En éste se evalúan los efectos del fingolimod y su metabolito activo FF, así como del dimetilfumarato y su metabolito activo monometilfumarato sobre la excitotoxicidad glutamatérgica. Para ello, se realizan experimentos *in vivo* y experimentos *in vitro*. Los experimentos *in vivo* se realizan en ratones B6.thy1-TN-XXL, pertenecientes a un modelo genético que permite el estudio de los niveles de Ca²⁺, así como la medición de la acción de los fármacos sobre la excitotoxicidad glutamatérgica y su repercusión sobre los niveles de Ca²⁺. Se les administra una concentración de 100mM de glutamato disuelto en PBS, lo que desencadena un rápido aumento de las concentraciones de Ca²⁺. Acto seguido se estudió el efecto del fingolimod y del dimetilfumarato, así como de sus respectivos metabolitos, sobre el aumento de las concentraciones de Ca²⁺ inducido por el glutamato. Se vio que la administración de 100µM de dimetilfumarato y monometilfumarato y 1µM de fingolimod y FF disueltos en PBS antes de la adición de glutamato no produjo diferencias significativas (ver Figura 10b). Sin embargo, al añadir 100mM de glutamato (minuto 120), se observó que tanto el monometilfumarato como el fingolimod y el FF redujeron la velocidad de

aumento de las concentraciones de Ca^{2+} en el tejido cerebral de los ratones, como muestra la ratio YFP-CFP medida mediante la técnica de fluorescencia FRET (Transferencia de Resonancia Förster) (ver Figura 10b).

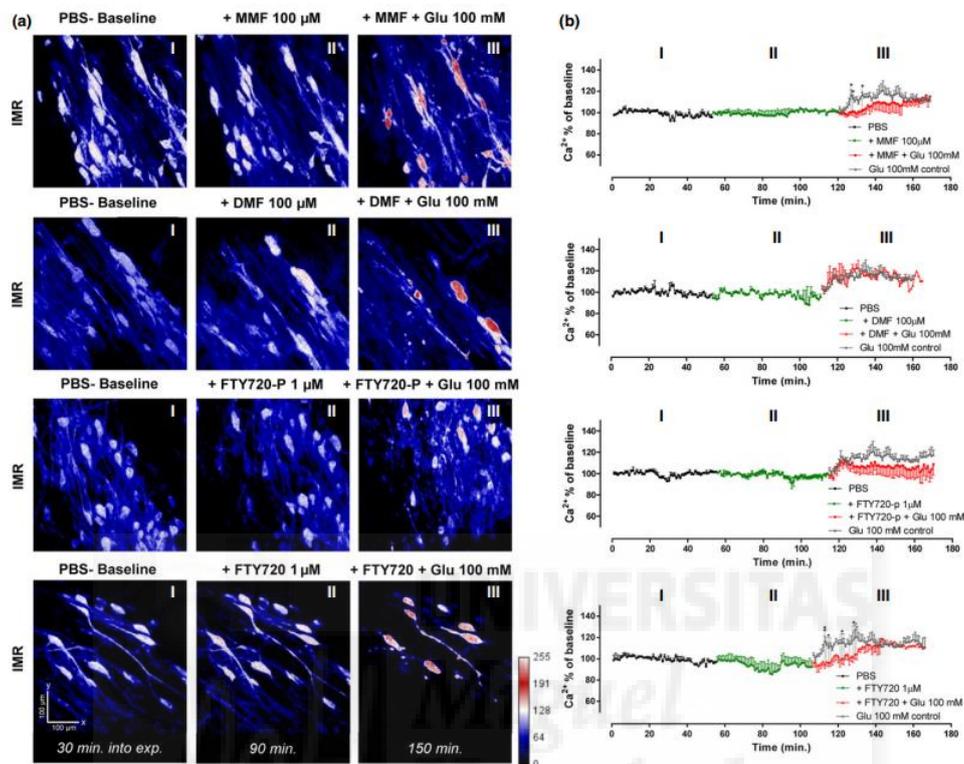


Figura 10: (a) Imágenes del IMR (*Intensity Modulated Ratio channel*) de los experimentos con monometilfumarato (1^a fila), dimetilfumarato (2^a fila), FTY720-P o FF (3^a fila) y FTY720 o fingolimod (4^a fila), en ausencia de fármaco (izquierda), presencia de fármaco (centro) y presencia de fármaco y 100mM de glutamato (derecha). (b) Cuantificación de los niveles globales de Ca^{2+} para cada experimento mostrado en (a), en ausencia de fármaco (negro), presencia de fármaco (verde) y presencia de fármaco y 100mM de glutamato (rojo). Imagen extraída de: Luchtman, 2016²⁵.

Por otro lado, los experimentos *in vitro* buscaron estudiar el efecto del dimetilfumarato y fingolimod frente a la liberación de glutamato por parte de los linfocitos Th₁₇. El resultado obtenido mediante el análisis del sobrenadante recogido de cultivos con linfocitos Th₁₇ mostró que el monometilfumarato redujo significativamente la liberación de glutamato por parte de estas células, al contrario que el FF, que no fue capaz de impedir dicha liberación (Figura 11). Finalmente, se evaluó el efecto de los fármacos frente a la excitotoxicidad. Para ello se utilizó un marcador de viabilidad celular con el fin de medir los efectos

neuroprotectores, ya que se vio que el tratamiento durante 24 horas con glutamato y N-metil-D-aspartato (NMDA) disminuyó significativamente la viabilidad celular de forma dosis-dependiente. El resultado obtenido fue que la administración de monometilfumarato y dimetilfumarato aumentó la viabilidad celular, ejerciendo un efecto protector frente a la excitotoxicidad inducida por glutamato y NMDA, al igual que la administración de fingolimod y FF. Sin embargo, es importante destacar que concentraciones superiores a las analizadas resultaron tóxicas para las neuronas.

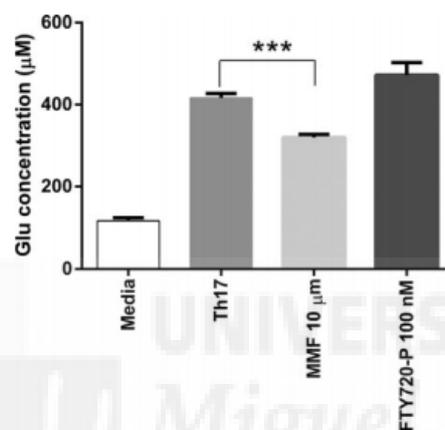


Figura 11: Gráfica mostrando la concentración de glutamato en cultivos de linfocitos Th₁₇ en ausencia de fármacos, en presencia de 10μM de monometilfumarato y en presencia de 100nM de FF, detectada con un kit de detección de glutamato. Imagen extraída de: Luchtman, 2016²⁵.

4.1.5. Estrés del retículo endoplasmático

El estrés del retículo endoplasmático (ERE) ha emergido como un mecanismo de neurodegeneración tanto en la EM como en la EAE. Una de las vías implicadas en este fenómeno es la que conduce a la fosforilación e inactivación del factor eIF2α, cuya forma fosforilada induce la expresión de una molécula pro-apoptótica (CHOP), que actúa inhibiendo moléculas anti-apoptóticas e induciendo daño axonal. Otra vía interesante implicada en el ERE es la que favorece la generación de una forma activa del factor de transcripción XBP-1, conocido como XBP-1s, el cual contribuye a reducir el ERE. La modulación del ERE podría ser una estrategia neuroprotectora en el tratamiento de la EM. En este sentido, el estudio de Huang y cols.²⁶ buscó demostrar que la inhibición de la vía eIF2α-CHOP y la activación del XBP-1 ejerce un efecto

neuroprotector frente a la EAE. Tras observar que el ERE afecta a las células ganglionares de la retina (CGR) en estadios tempranos de la EAE, se buscó demostrar que la manipulación de este fenómeno proveía un efecto neuroprotector en estas células. Para ello, se realizaron dos experimentos distintos.

En primer lugar, para evaluar el efecto de la activación del XBP-1 se administró una inyección intravítrea de XBP-1s en los distintos grupos de ratones que muestra la siguiente tabla (Tabla 4).

Ratones		Intervención
Control		No intervención
EAE		
EAE	WT	Administración de XBP-1s unido a virus AAV2.
	CHOP-KO	

Tabla 4: Resumen de la asignación de los ratones a los distintos grupos del estudio de Huang y cols. ²⁶.

El virus AAV2 se emplea como vehículo en este caso ya que tiene preferencia por infectar las células CGR, de este modo, se consigue llevar el XBP-1s hasta estas células. Los ratones CHOP-KO son ratones modificados genéticamente que carecen de la molécula pro-apoptótica CHOP. El resultado observado fue que el porcentaje de supervivencia de las CGR fue mayor en los ratones con sobreexpresión de XBP-1s, particularmente en el grupo de ratones CHOP-KO, respecto a los ratones con EAE no intervenidos. De este modo, se demuestra que la activación del XBP-1 ejerce un efecto neuroprotector sobre las CGR.

Huang y cols. demostraron que la inhibición de la fosforilación del factor eIF2 α conducía a la inhibición de la molécula pro-apoptótica CHOP en las CGR, protegiéndolas de la apoptosis inducida por el ERE. De este modo, se demostró que la inhibición del ERE mediante la manipulación de la vía eIF2 α -CHOP junto con la activación del XBP-1s ofrece un efecto neuroprotector mediante la protección del soma y los axones de las CGR.

Estrategia	Modelo	Intervención	Resultados	Estudio
Estrés oxidativo	Desmielinización-remielinización con cuprizona	Adm. 250mg/kg resveratrol	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Actividad COX • ↑ ATP 	Ghaiad y cols. ¹⁸
	Inducción de estrés oxidativo con Adm. de Vitk3	Adm. FF	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Actividad COX • ↑ Expresión Nrf-2, HO1 y Trx-2 	Martín-Montañez y cols. ¹⁹
	EAE	Adm. KYC	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ mieloperoxidasa • ↓ Niveles ClTyr 	Yu y cols. ²⁰
Neuroinflamación	Pacientes con EM remitente-recurrente	Adm. DMF	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ nº linfocitos T (CD4⁺, CD8⁺, Th₁₇ tipo Th₁) • ↓ Células B memoria • ↑ Células B innatas • ↓ Células NK citotóxicas • ↑ Células NK reguladoras 	Mansilla y cols. ²²
	Pacientes con EM remitente-recurrente.	Adm. 25mg/día Melatonina	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Niveles de IL-1β, IL-6 y TNF-α 	Sánchez-López y cols. ²³
Factores neurotróficos	Pacientes con EM remitente-recurrente	Adm. Fingolimod	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Secreción BDNF en células T, monocitos y PBMCs 	Golan y cols. ²⁴
Excitotoxicidad	<i>In vivo</i> : ratones B6.thy1-TN.XXL	Adm. DMF y Fingolimod .	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Velocidad de aumento [Ca²⁺] por parte de MMF, fingolimod y FF 	Luchtman y cols. ²⁵
	<i>In vitro</i> : cultivo de linfocitos Th ₁₇	Evaluación de ambos fármacos y metabolitos (MMF y FF)	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Liberación de Glu en linfocitos Th₁₇ con adm. de MMF. 	
	<i>In vitro</i> : cultivo celular con exposición a Glu y NMDA		<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Viabilidad celular con DMF, MMF, fingolimod y FF • ↓ Excitotoxicidad 	
Estrés del retículo endoplasmático	EAE	Inhibición vía eIF2α-CHOP Activación del XBP-1	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ % de supervivencia de CGR 	Huang y cols. ²⁶

Tabla 5: Resumen de las distintas estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la EM. *DMF*: Dimetilfumarato, *MMF*: Monometilfumarato, *Glu*: glutamato.

4.2. Estrategias farmacológicas neuroreparadoras

La remielinización es un proceso regenerativo espontáneo, que implica la activación, migración y diferenciación de las CPO¹⁰. Los defectos en la remielinización, junto con la falta de reparación de lesiones y la neurodegeneración, son los factores que conducen a la progresión y a la discapacidad^{1, 10}. Por ello, la remielinización es el objetivo de nuevas estrategias farmacológicas en el tratamiento de la EM. En este bloque se realizará una revisión de las distintas estrategias farmacológicas con potencial neuroreparador (Tabla 6).

4.2.1. Inhibición dual de la PDE-7 y quinasa GSK-3

El trabajo de Medina-Rodríguez y cols.²⁷ analizó esta estrategia mediante una serie de estudios *in vitro* e *in vivo* con el objetivo de demostrar que las moléculas de pequeño tamaño VP1.15 y VP3.15, mediante la inhibición dual de la fosfodiesterasa-7 (PDE7) y de la quinasa glucógeno-sintasa-3 (GSK3), promueven la remielinización. Por un lado, este trabajo demostró que la inhibición dual de PDE7-GSK3 mejora la remielinización *in vivo*. Para ello, se empleó un modelo de desmielinización inducida por cuprizona, la cual produjo una desmielinización del cuerpo calloso de los ratones tras 5 semanas (ver Figura 12 a y b). Después de este periodo, a los ratones se les administró vehículo (VEH), VP1.15 o VP3.15 durante 1 semana o 3 semanas (ver Figura 12, c-h). La administración de ambos inhibidores produjo un aumento de la remielinización respecto a la administración de VEH, efecto que fue confirmado mediante inmunodetección de PBM. Además, la cuprizona produjo un aumento de las CPO en comparación con el grupo control. Dicho aumento fue revertido en los ratones tratados con VP1.15 y VP3.15, lo cual sugiere que estas moléculas promueven una rápida diferenciación de las CPO en oligodendrocitos maduros, promoviendo de este modo la remielinización.

Finalmente, se evaluó el efecto directo de los inhibidores duales sobre la remielinización mediante un modelo de desmielinización-remielinización en el cual se inyectó lisofosfatidilcolina (LPC) en ratones con la finalidad de inducir la desmielinización, y a los 9 días se administró VEH, VP1.15 o VP3.15. Se midieron el porcentaje de axones mielinizados y el grosor de las vainas de

mielina mediante microscopía electrónica. El resultado obtenido fue, por un lado, un incremento en el porcentaje de axones mielinizados en los ratones tratados con VP1.15 a los 14 y 21 días de la inyección de LPC respecto a los ratones tratados con VEH, pero no en aquellos tratados con VP3.15. Por otro lado, el tratamiento con ambos inhibidores fomentó un engrosamiento de las vainas de mielina, alcanzando niveles similares a los observados en el grupo control, sin mostrar signos de hipermielinización.

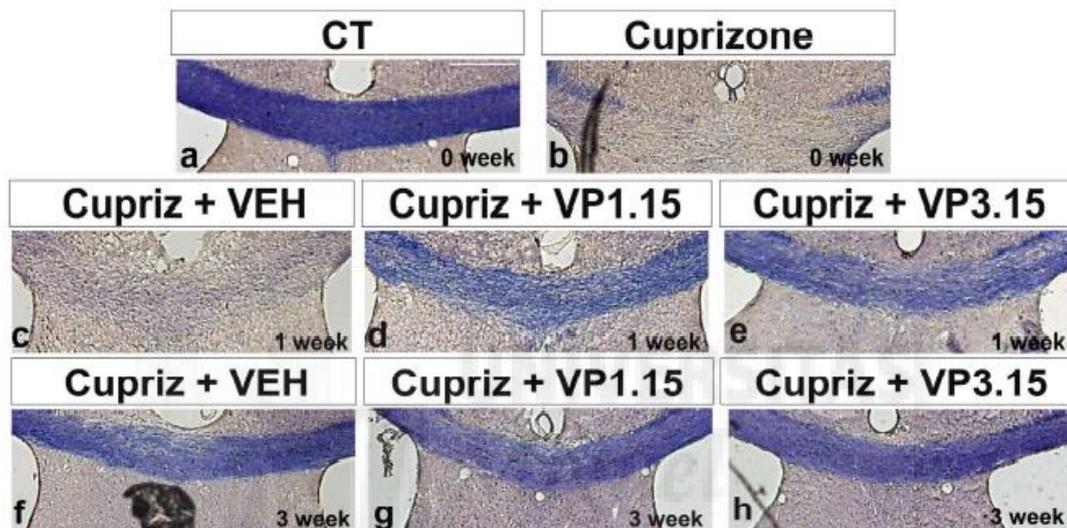


Figura 12: Tinción de eriocromo cianina del cuerpo calloso de ratones adultos del grupo control (a), expuestos a cuprizona (b), expuestos a cuprizona+VEH y cuprizona+VP1.15 o VP3.15 durante 1 y 3 semanas (c-h). Imagen extraída de: Medina-Rodríguez, 2017²⁷.

4.2.2. Promoción de la expresión de factores de transcripción de oligodendrocitos (*Olig1* y *Olig2*)

Los factores de transcripción *Olig1* y *Olig2* son esenciales en la proliferación y diferenciación de CPO en oligodendrocitos, contribuyendo de este modo a la remielinización axonal. Estudios anteriores revelaron que el *Olig1* contribuye en mayor medida a la diferenciación de oligodendrocitos en el cerebro, mientras que el *Olig2* es requerido para la oligodendrogliogénesis en la médula espinal. Un trabajo sobre esta estrategia neuroreparadora es el de Yang y cols.²⁸, el cual trata sobre el Catalpol (CAT), un iridoide extraído de la planta *Radix Rehmanniae*, que ha demostrado tener un efecto neuroprotector y una potencial habilidad de remielinización al actuar promoviendo la expresión de los

factores de transcripción Olig1 y Olig2. En este estudio se emplean ratones a los que se divide aleatoriamente en 6 grupos: control normal (NC), modelo EAE (EAE), tratados con acetato de prednisona (EAE+PA) y tratados con 80mg/kg/día, 40mg/kg/día y 20mg/kg/día de CAT (EAE+CAT-H, EAE+CAT-M y EAE+CAT-L respectivamente). La inducción de EAE se lleva a cabo mediante la inyección de MOG.

El estudio reveló que la expresión de proteínas de los factores de transcripción Olig1 y Olig2 se vio disminuida en los ratones a los que se indujo EAE. Sin embargo, se observó un aumento de la expresión de proteínas de Olig1 en presencia de CAT-M (EAE+CAT-M) y un aumento de la expresión de proteínas Olig2 en presencia de Catalpol-H, M y L (EAE+CAT-H, M y L) en comparación con los ratones del grupo EAE. Por tanto, mediante el aumento de la expresión de los factores de transcripción Olig1 y Olig2, el CAT promueve la remielinización axonal, lo cual se demuestra por el engrosamiento de las vainas de mielina axonal en ratones con EAE tratados con CAT-H, CAT-M y CAT-L en comparación con los ratones EAE no tratados en los días 18 y 40.

4.2.3. Promoción de la expresión de la proteína NG2

El estudio de Yang y cols.²⁸ también demuestra que el CAT actúa sobre la expresión de la proteína NG2. Esta proteína juega un papel importante en la patogénesis y en la progresión tanto de la EAE como de la EM, siendo una proteína esencial para la remielinización. De hecho, estos autores demostraron que, en comparación con los ratones del grupo EAE y EAE+PA, la expresión de proteínas de NG2 se incrementa en presencia de CAT-H, CAT-M y CAT-L en los días 18 y 40, promoviendo con ello la remielinización axonal.

Otro estudio acerca de la remielinización ejercida por la NG2 es el de Yu y cols.²⁰ ya mencionado anteriormente. En este trabajo se investigó si la administración de KYC era capaz de promover la regeneración de oligodendrocitos en los ratones con EAE. El resultado obtenido fue que la administración de KYC aumentó el número de CPO (inmunotinción NG2⁺) y de CPO tempranas (inmunotinción O4⁺) (ver Figura 13), por lo que la inhibición de

la mieloperoxidasa promueve la regeneración de los oligodendrocitos y, con ello, la remielinización.

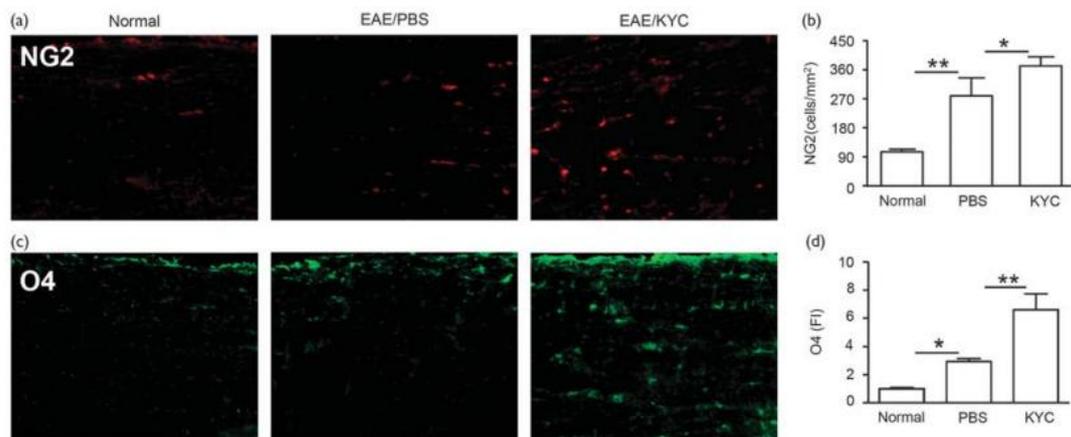


Figura 13: Efecto del KYC sobre la regeneración de oligodendrocitos en ratones con EAE. Inmunotinción de células NG2⁺ (a) y células O4⁺ (c) en ratones normales, con EAE y con EAE tratados con KYC. Las Gráficas b y d muestran el resultado del análisis de la intensidad de la fluorescencia de a y c respectivamente. Imagen extraída de: Yu, 2017²⁰.

4.2.4. Modulación del receptor estrogénico β (ER β)

Recientemente, la terapia con estrógenos ha emergido como un posible tratamiento de la EM. Los efectos estrogénicos están mediados principalmente por los receptores de estrógenos (ER) α y β . A diferencia de los ligandos selectivos de los ER α , los ligandos selectivos de los ER β ofrecen muchos de los efectos estrogénicos beneficiosos sin producir los efectos adversos de los ER α (efectos feminizantes en hombres y aumento del riesgo de cáncer debido a su efecto proliferativo). Un estudio que analiza el potencial terapéutico de los ligandos selectivos del ER β es el de Karim y cols.²⁹, en el que se utilizan ratones a los que se induce EAE para demostrar el potencial efecto neuroreparador sobre la enfermedad del diarilpropionitrilo (DPN), cloroindazol (IndCl) y WAY-202041 (WAY), todos ellos ligandos del ER β .

El análisis de cultivos celulares de estos ratones demostró, mediante inmunohistoquímica, que la administración de DPN, IndCl y WAY produjo un aumento en la expresión de quimiocina CXCL-1 en comparación con la administración de VEH, lo cual indica que la modulación del ER β promueve la producción astrocítica de CXCL-1. Brevemente, la quimiocina CXCL-1 es

expresada por los astrocitos y actúa atrayendo neutrófilos al unirse a su receptor CXCR2, presente en neutrófilos y oligodendrocitos. Estudios anteriores han demostrado que los astrocitos con capacidad de expresar CXCL-1 se encuentran en las lesiones desmielinizantes, indicando que dicha quimiocina podría jugar un papel importante en el reclutamiento de CPO, favoreciendo la remielinización. Posteriormente, se analizó el sobrenadante de un cultivo de astrocitos estimulado con la citoquina proinflamatoria IL-1 β , revelando un aumento de la expresión de CXCL1. La adición de este mismo sobrenadante en un cultivo de oligodendrocitos produjo un aumento de la expresión de PBM. Este resultado demuestra, por un lado, que el ambiente inflamatorio favorece la expresión de CXCL-1 por parte de los astrocitos y, por otro lado, que la interacción de CXCL-1 con su receptor CXCR2 en los oligodendrocitos promueve la remielinización axonal.

Karim y cols.²⁹ también analizaron la importancia de la función del receptor CXCR2. Para ello, utilizaron un medio de cultivo astrocítico condicionado con IL-1 β (IL-1 β ACM) y otro no condicionado, en presencia o ausencia de SB 225002 (antagonista del CXCR2). Los resultados mostraron una reducción de la expresión de PBM y un aumento de la apoptosis de oligodendrocitos en el cultivo condicionado con IL-1 β y en presencia de SB 225002. Esto indica que el antagonismo del CXCR2 afecta a la función remielinizadora de los oligodendrocitos y contribuye a su apoptosis. De hecho, estudios anteriores demostraron que el CXCR2 promueve la supervivencia de estas células al aumentar los niveles de la molécula anti-apoptótica Bcl-2.²⁹ Además, este estudio reveló que la administración de los ligandos del ER β produjo un aumento en la expresión de estos receptores tanto en oligodendrocitos como en CPO.

Con todo, estos resultados sugieren que la modulación ejercida por los ligandos del ER β sobre la expresión astrocítica de CXCL1 y sobre el receptor CXCR2 favorece la supervivencia y función de las CPO y los oligodendrocitos, lo que se traduce en un aumento de la remielinización axonal.

4.2.5. Inducción de la apoptosis en la microglía

Esta estrategia se evalúa en el trabajo de Schampel y cols.³⁰, en el cual se demuestra como el nimodipino, un antagonista de canales de calcio de tipo L, ejerce efectos neuroprotectores sobre la microglía, promoviendo la remielinización. Se utilizaron ratones SJL/J a los que se indujo EAE mediante la administración de MP4, una proteína de fusión de PBM y PLP. Posteriormente, se administra 10mg/kg de nimodipino o 10mg/kg de VEH, y se analiza la médula espinal mediante microscopía electrónica. Este estudio demostró que la administración de nimodipino frente a la administración de VEH en ratones con EAE reduce el número de fibras desmielinizadas, favoreciendo su remielinización. La observación de la población de oligodendrocitos reveló un aumento del número de oligodendrocitos Olig2⁺APC⁺ en los ratones con EAE tratados con nimodipino frente a aquellos a los que se administra VEH, lo cual apoya el resultado mencionado anteriormente y demuestra que este fármaco ejerce un efecto neuroreparador.

Otro resultado obtenido en este trabajo es la disminución de la viabilidad y del número de células de la microglía (Iba1⁺), demostrada mediante la inmunotinción Iba1, específica de este tipo de células. Esta disminución de las células de la microglía se acompaña de un aumento de las células anexina V⁺, una proteína utilizada en citometría de flujo para detectar células apoptóticas. Por tanto, se demuestra que el nimodipino favorece la apoptosis de las células de la microglía en ratones con EAE en comparación con aquellos tratados con VEH, atenuando de este modo la producción de moléculas que podrían fomentar la neurodegeneración. Siguiendo esta línea, Schampel y cols. demostraron que el efecto del nimodipino sobre la microglía no afectaba a todas las células. La administración de distintas dosis de este fármaco no produjo ningún efecto citotóxico sobre los astrocitos respecto a la administración de VEH (Figura 14 A y B). Prueba de ello es la tinción GFAP (proteína presente en astrocitos y otras células gliales) llevada a cabo en cortes de médula espinal de ratones con EAE, donde se observa un aumento de las células GFAP⁺ en los ratones tratados con 10µM de nimodipino respecto a los tratados con VEH (Figura 14 C). Además, el tratamiento con este fármaco tampoco afectó a los macrófagos F4/80⁺, lo cual

fue demostrado mediante un análisis de cortes del bazo de ratones con EAE tratados con 10 μ M de nimodipino o con VEH que no reveló diferencias significativas entre ambos grupos (Figura 14 D). De este modo, la administración de este fármaco genera un ambiente propicio que favorece la remielinización axonal.

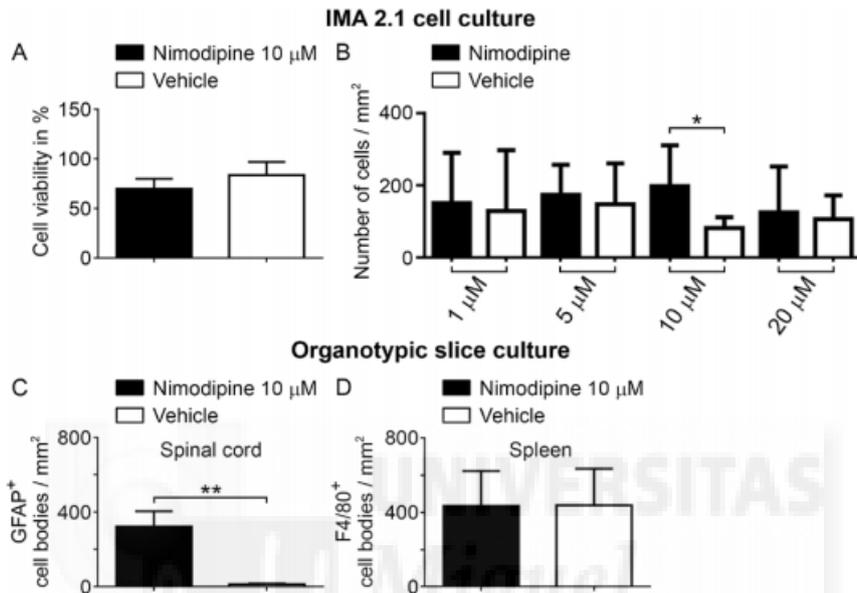


Figura 14: Gráficas mostrando el número de astrocitos (cultivo de células IMA 2.1) en ratones con EAE tratados con distintas dosis de nimodipino o con distintas dosis de VEH (A y B). Gráficas mostrando el número de células GFAP⁺ en cortes de la médula espinal (C) y el número de macrófagos F4/80⁺ en cortes del bazo (D) de ratones con EAE tratados con 10 μ M de nimodipino o con VEH. Imagen suplementaria extraída de: Schampel, 2017³⁰.

Estrategia	Modelo	Intervención	Resultados	Estudio
Inhibición dual de PDE7-GSK3	Desmielinización-remielinización con CU	Adm. VP1.15, VP3.15 o VEH	↑ Remielinización axonal.	Medina-Rodríguez y cols. ²⁷
	Desmielinización-remielinización con LPC		<ul style="list-style-type: none"> • ↑ % de axones mielinizados • Engrosamiento de las vainas de mielina 	
Promoción de la expresión de Olig1 y Olig2	EAE	Adm. CAT: <ul style="list-style-type: none"> • H: 80mg/kg • M: 40mg/kg • L: 20mg/kg 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Expresión proteínas de Olig1 y Olig2 • Engrosamiento de las vainas de mielina 	Yang y cols. ²⁸
Promoción de la expresión de NG2	EAE	Adm. CAT: <ul style="list-style-type: none"> • H: 80mg/kg • M: 40mg/kg • L: 20mg/kg 	↑ Expresión de proteínas NG2	Yang y cols. ²⁸
	EAE	Adm. KYC	↑ Expresión de proteínas NG2 en las CPO	Yu y cols. ²⁰
Modulación ERβ	EAE	Adm. DPN, IndCl, WAY	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Expresión astrocítica de CXCL1 • ↑ Expresión CXCR2 en oligodendrocitos y CPO 	Karim y cols. ²⁹
Inducción de apoptosis en la microglía	EAE	Adm. nimodipino o VEH	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Apoptosis selectiva en la microglía, sin alterar astrocitos ni macrófagos. 	Schampel y cols. ³⁰

Tabla 6: Resumen de las distintas estrategias farmacológicas neuroreparadoras en el tratamiento de la EM.

5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de revisión bibliográfica se ha analizado la literatura disponible acerca de las distintas estrategias farmacológicas neuroprotectoras en el tratamiento de la EM. Las evidencias científicas que se han recopilado muestran que, tanto las estrategias farmacológicas neuroprotectoras como las neuroreparadoras podrían marcar la diferencia en el tratamiento de la EM, debido a sus efectos protectores frente a la neurodegeneración característica de esta enfermedad y a la promoción de la remielinización axonal.

Los estudios realizados en modelos animales acerca del estrés oxidativo ponen de manifiesto que el aumento de ROS juega un papel importante en las enfermedades neurodegenerativas como la EM. Los estudios de Ghaiad y cols.¹⁸ y Martin-Montañez y cols.¹⁹ demuestran que uno de los factores que fomenta la neurodegeneración es la disminución de la actividad COX. Los segundos demuestran también que se produce una reducción de la expresión de Nrf-2, esencial a la hora de contrarrestar la acumulación de ROS mediante la regulación de enzimas antioxidantes como HO1 y Trx-2. Yu y cols.²⁰ demuestran que en la EAE se produce un aumento de la oxidación mediada por la mieloperoxidasa. Estas situaciones generan un aumento del estrés oxidativo que es contrarrestado mediante la administración de antioxidantes como el resveratrol¹⁸, FF¹⁹ y KYC²⁰. Sería necesario comprobar estos efectos en diversos modelos experimentales, ya que hasta la fecha ninguno de los modelos existentes reproduce la totalidad de características de la EM²¹. Paralelamente, algunos trabajos han demostrado que la disminución de la neuroinflamación reduce la neurodegeneración. Estudios llevados a cabo en pacientes con EM remitente-recurrente, como el de Mansilla y cols.²² o el de Sánchez-López y cols.²³ corroboran esta estrategia. Los primeros demostraron que parte del efecto antiinflamatorio del dimetilfumarato se debe al aumento del porcentaje de células NK reguladoras, que podría estar detrás de la reducción de linfocitos Th₁₇ de tipo Th₁ de memoria central y efectora. Futuros estudios más prolongados y con un mayor número de pacientes son necesarios para confirmar este hallazgo. El trabajo de Sánchez-López y cols.²³ es el primero en mostrar que la melatonina reduce los niveles de citoquinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α en estos

pacientes. Sin embargo, algunas limitaciones del estudio deben tenerse en cuenta, como el tamaño de la muestra o la corta duración de la intervención.

Otra estrategia neuroprotectora comentada anteriormente es el aumento de la producción de factores neurotróficos, como el BDNF. El trabajo de Golan y cols.²⁴ en pacientes con EM remitente-recurrente muestra que el fingolimod induce la producción de esta neurotrofina por parte de las células T, monocitos y PBMCs, fomentando la neuroprotección. A pesar de ello, no se ha estudiado el efecto directo del fingolimod sobre el BDNF, por lo que no se puede concluir si existe un efecto regulador directo del fármaco sobre la producción de BDNF por parte de las células T. Por otro lado, Lutchman y cols.²⁵ demostraron que el dimetilfumarato y el fingolimod, junto con sus respectivos metabolitos, fueron capaces de reducir la excitotoxicidad glutamatérgica a nivel neuronal, aunque de forma muy variable (el dimetilfumarato no tuvo un efecto claro). Sin embargo, cabe señalar que, aunque se retrasó la aparición de la excitotoxicidad, no se consiguió prevenirla, de modo que un objetivo relevante sería investigar si existen otros compuestos que tengan esta capacidad. Otro punto interesante, dado que estos estudios fueron realizados *in vitro*, sería evaluar el efecto de estos fármacos sobre la excitotoxicidad en modelos animales de EM para corroborar el efecto neuroprotector. Por último, Huang y cols.²⁶ demostraron que la modulación del ERE ejerce un efecto neuroprotector en ratones con EAE, al aumentar la supervivencia de las CGR. Sin embargo, en estudios anteriores se ha demostrado que el ERE en oligodendrocitos promueve su supervivencia frente a la EAE. Resultaría interesante realizar estudios más avanzados para determinar de qué forma podría modularse el ERE sin afectar a los oligodendrocitos, mejorando de este modo el efecto neuroprotector.

La neuroreparación despierta un interés creciente en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas como la EM, debido a que podría revertir parte de la enfermedad y reducir la discapacidad. Una de las estrategias neuroreparadoras es la inhibición dual de la PDE7-GSK3, evaluada por Medina-Rodríguez y cols.²⁷. El estudio demostró que la administración de VP1.15 y VP3.15 revirtió la desmielinización inducida por cuprizona y potenció la posterior remielinización axonal. Cabe señalar que ambos compuestos presentan una

buena biodisponibilidad por vía oral y atraviesan la BHE, características ventajosas a la hora de desarrollarse como fármacos en un futuro. Sin embargo, son necesarios ensayos clínicos para confirmar los beneficios que estas moléculas pueden aportar a los pacientes con EM. Por otro lado, la expresión de Olig1 y Olig2 evaluada por Yang y cols.²⁸ es otra estrategia neuroreparadora. Este trabajo demuestra que el CAT fomenta la expresión de proteínas de Olig1 y Olig2 en ratones con EAE, favoreciendo la remielinización axonal. Además, el trabajo de estos autores, junto con el trabajo de Yu y cols.²⁰ evalúan cómo el aumento de la expresión de la proteína NG2 ejerce un efecto neuroreparador, promoviendo la supervivencia y proliferación de CPO. En ambos casos, sería interesante probar estas estrategias en más modelos experimentales, así como comprobar los perfiles de seguridad y tolerabilidad de los compuestos en cuestión. Otra estrategia a tener en cuenta es la administración de ligandos del ER β . Karim y cols.²⁹ demostraron que estos ligandos aumentan la expresión de CXCL1 por parte de los astrocitos. La unión a su receptor CXCR2 provoca una disminución de la apoptosis de CPO y un aumento de la expresión de PBM que es indicativo de remielinización. Esta estrategia resulta interesante ya que se suma a los efectos antiinflamatorios ya descritos en otros estudios, mediante los cuales los ligandos del ER β ejercen un efecto beneficioso en modelos experimentales de EM. Por último, Schampel y cols.³⁰ muestran que la inducción selectiva de la apoptosis en la microglía atenúa la neuroinflamación y favorece la preservación de astrocitos y oligodendrocitos. Una ventaja de esta estrategia es que el nimodipino tiene un perfil de seguridad bien definido debido a su uso como antihipertensivo. Sin embargo, sería interesante llevar a cabo ensayos clínicos para evaluar la viabilidad del uso continuado de este fármaco como tratamiento para la EM.

Como conclusión, se ha demostrado que las terapias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras pueden ofrecer un gran cambio en la calidad de vida de los pacientes con EM y otras enfermedades neurodegenerativas. En efecto, al centrarse en los distintos mecanismos de neurodegeneración desencadenados por el exceso de inflamación en el SNC, estas terapias favorecen la remielinización axonal, pudiendo frenar la progresión

de la discapacidad e incluso revertir la enfermedad. Por lo tanto, estas estrategias farmacológicas tienen potencial para, en un futuro próximo, convertirse en tratamientos eficaces no sólo contra la EM, si no contra otras muchas enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, para ello es necesario el empleo de modelos animales con una buena capacidad traslacional que simulen lo mejor posible la neuropatología de la EM. Esto permitirá conocer mejor los mecanismos implicados en la enfermedad, así como el potencial de las terapias neuroprotectoras y neuroreparadoras para, en un futuro, poder avanzar hacia la aproximación clínica en pacientes tras haber obtenido un buen perfil de eficacia y seguridad.



6. CONCLUSIONES

1. La EM carece de un tratamiento que sea capaz de frenar la progresión de la enfermedad, por lo que existe un gran interés en descubrir nuevas estrategias que puedan proporcionar efectos neuroprotectores.
2. Los distintos mecanismos que dan lugar a la degeneración axonal en el SNC se utilizan como dianas para el desarrollo de terapias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras.
3. Las terapias farmacológicas neuroprotectoras antagonizan los efectos neurodegenerativos producidos por el exceso de inflamación en el SNC, pudiendo ser eficaces a la hora de frenar la progresión de la EM.
4. Las terapias farmacológicas neuroreparadoras favorecen la supervivencia y función de oligodendrocitos y otras células del SNC implicadas en la remielinización axonal, y podrían llegar a revertir la enfermedad.
5. Los modelos experimentales de EM reproducen muchas de las características fisiopatológicas de la enfermedad y permiten el estudio de terapias con potencial efecto protector a nivel del SNC.
6. Sin embargo, son necesarios estudios y ensayos clínicos en humanos para conocer el impacto real de estas terapias farmacológicas en la EM, así como sus posibles limitaciones y efectos adversos.
7. Los datos recopilados en esta revisión bibliográfica muestran que las terapias farmacológicas neuroprotectoras y neuroreparadoras son el futuro en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la EM y, junto con los actuales fármacos inmunomoduladores e inmunosupresores, podrían aportar la cura a la enfermedad.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Villoslada P, Moreno B. Neuroprotective Therapies for Multiple Sclerosis. *European Neurological Review*. 2012;7(3):189.
2. Yong H, Chartier G, Quandt J. Modulating inflammation and neuroprotection in multiple sclerosis. *J Neurosci Res*. 2018;96(6):927-50.
3. D'Amico E, Patti F, Zanghi A, Zappia M. A Personalized Approach in Progressive Multiple Sclerosis: The Current Status of Disease Modifying Therapies (DMTs) and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10).
4. Pérez-Carmona N. F-J, E., Sempere A.P. Epidemiología de la esclerosis múltiple en España. *Neurología* 2019;69:32-8.
5. Fernández-Moriano C. Esclerosis múltiple, estado de su terapéutica. *Panorama Actual Medicamento*. 2019;43(429):1328-55.
6. Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis – a review. *European Journal of Neurology*. 2018;26(1):27-40.
7. Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S, et al. Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):43.
8. Domínguez-Moreno R ME, Rossiere-Echazarreta NL, Olan Triano R, Gutiérrez-Morales JL. Esclerosis múltiple, revisión de la literatura médica. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2012.
9. Quintana FJ YA, Mascanfroni ID. Inmunopatología en la esclerosis múltiple. In: Álvarez-Cermeño JC I-AG, editor. *Neurodegeneración en la Esclerosis Múltiple*. España2015.
10. Kremer D, Gottle P, Flores-Rivera J, Hartung HP, Kury P. Remyelination in multiple sclerosis: from concept to clinical trials. *Curr Opin Neurol*. 2019;32(3):378-84.
11. Ohl K, Tenbrock K, Kipp M. Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Exp Neurol*. 2016;277:58-67.
12. Flórez J. *Farmacología Humana*. 3 ed. España1997.
13. Pitteri M, Magliozzi R, Bajrami A, Camera V, Calabrese M. Potential neuroprotective effect of Fingolimod in multiple sclerosis and its association with clinical variables. *Expert Opin Pharmacother*. 2018;19(4):387-95.
14. Vidal-Jordana A. New Advances in Disease-Modifying Therapies for Relapsing and Progressive Forms of Multiple Sclerosis. *Neurol Clin*. 2018;36(1):173-83.
15. Yadav SK, Soin D, Ito K, Dhib-Jalbut S. Insight into the mechanism of action of dimethyl fumarate in multiple sclerosis. *J Mol Med (Berl)*. 2019;97(4):463-72.
16. Shirani A, Okuda DT, Stuve O. Therapeutic Advances and Future Prospects in Progressive Forms of Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2016;13(1):58-69.
17. Villoslada P. Neuroprotective therapies for multiple sclerosis and other demyelinating diseases. *Multiple Sclerosis and Demyelinating Disorders*. 2016;1(1).
18. Ghaiad HR, Nooh MM, El-Sawalhi MM, Shaheen AA. Resveratrol Promotes Remyelination in Cuprizone Model of Multiple Sclerosis: Biochemical and Histological Study. *Mol Neurobiol*. 2017;54(5):3219-29.

19. Martin-Montanez E, Pavia J, Valverde N, Boraldi F, Lara E, Oliver B, et al. The S1P mimetic fingolimod phosphate regulates mitochondrial oxidative stress in neuronal cells. *Free Radic Biol Med*. 2019;137:116-30.
20. Yu G, Zheng S, Zhang H. Inhibition of myeloperoxidase by N-acetyl lysyltyrosylcysteine amide reduces experimental autoimmune encephalomyelitis-induced injury and promotes oligodendrocyte regeneration and neurogenesis in a murine model of progressive multiple sclerosis. *Neuroreport*. 2018;29(3):208-13.
21. Torre-Fuentes L, Moreno-Jimenez L, Pytel V, Matias-Guiu JA, Gomez-Pinedo U, Matias-Guiu J. Experimental models of demyelination and remyelination. *Neurologia*. 2020;35(1):32-9.
22. Mansilla MJ, Navarro-Barriuso J, Presas-Rodriguez S, Teniente-Serra A, Quirant-Sanchez B, Ramo-Tello C, et al. Optimal response to dimethyl fumarate is mediated by a reduction of Th1-like Th17 cells after 3 months of treatment. *CNS Neurosci Ther*. 2019;25(9):995-1005.
23. Sanchez-Lopez AL, Ortiz GG, Pacheco-Moises FP, Mireles-Ramirez MA, Bitzer-Quintero OK, Delgado-Lara DLC, et al. Efficacy of Melatonin on Serum Pro-inflammatory Cytokines and Oxidative Stress Markers in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis. *Arch Med Res*. 2018;49(6):391-8.
24. Golan M, Mausner-Fainberg K, Ibrahim B, Benhamou M, Wilf-Yarkoni A, Kolb H, et al. Fingolimod Increases Brain-Derived Neurotrophic Factor Level Secretion from Circulating T Cells of Patients with Multiple Sclerosis. *CNS Drugs*. 2019;33(12):1229-37.
25. Luchtman D, Gollan R, Ellwardt E, Birkenstock J, Robohm K, Siffrin V, et al. In vivo and in vitro effects of multiple sclerosis immunomodulatory therapeutics on glutamatergic excitotoxicity. *J Neurochem*. 2016;136(5):971-80.
26. Huang H, Miao L, Liang F, Liu X, Xu L, Teng X, et al. Neuroprotection by eIF2 α -CHOP inhibition and XBP-1 activation in EAE/optic neuritis. *Cell Death Dis*. 2017;8(7):e2936.
27. Medina-Rodriguez EM, Bribian A, Boyd A, Palomo V, Pastor J, Lagares A, et al. Promoting in vivo remyelination with small molecules: a neuroreparative pharmacological treatment for Multiple Sclerosis. *Sci Rep*. 2017;7:43545.
28. Yang T, Zheng Q, Wang S, Fang L, Liu L, Zhao H, et al. Effect of catalpol on remyelination through experimental autoimmune encephalomyelitis acting to promote Olig1 and Olig2 expressions in mice. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):240.
29. Karim H, Kim SH, Lapato AS, Yasui N, Katzenellenbogen JA, Tiwari-Woodruff SK. Increase in chemokine CXCL1 by ER β ligand treatment is a key mediator in promoting axon myelination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(24):6291-6.
30. Schampel A, Volovitch O, Koeniger T, Scholz CJ, Jorg S, Linker RA, et al. Nimodipine fosters remyelination in a mouse model of multiple sclerosis and induces microglia-specific apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(16):E3295-E304.