



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΒΛΑΒΩΝ ΝΩΤΙΑΙΟΥ ΜΥΕΛΟΥ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ
ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»

Γ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΠΑ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΝΤΑΦΟΥ Δ. ΒΑΣΙΛΙΚΗ

«Η ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΓΛΟΙΑΣ ΣΤΗ ΒΛΑΒΗ ΤΟΥ ΝΩΤΙΑΙΟΥ ΜΥΕΛΟΥ»

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ-ΜΑΡΙΑ,

ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2020



**NATIONAL AND KAPODISTRIAN
UNIVERSITY OF ATHENS
MEDICAL SCHOOL**

POST-GRADUATE PROGRAM

**«REHABILITATION FOLLOWING SPINAL CORD LESIONS.
SPINAL PAIN MANAGEMENT»**

MASTER THESIS

NTAFOU D. VASILIKI

“MICROGLIA REACTION AFTER SPINAL CORD INJURY”

**SUPERVISOR: EVAGGELOPOULOU ELEFThERIA-MARIA,
ASSISTANT PROFESSOR OF NEUROLOGY**

ATHENS 2020

Βιογραφικό σημείωμα

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ντάφου Δ. Βασιλική

Υποσημηναγός Υγειονομικού Πολεμικής Αεροπορίας

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιούνιος 2014-σήμερα

Νοσηλεύτρια Νευροχειρουργικής-Οφθαλμολογικής Κλινικής

Νευροχειρουργική-Οφθαλμολογική Κλινική, Πτέρυγα 6Α
251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας

Σεπτέμβριος 2013 – Ιούνιος 2014

Εκπαιδευόμενη Νοσηλεύτρια

251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

Οκτώβριος 2018 – Ιούλιος 2020

"Αποκατάσταση Βλαβών Νωτιαίου Μυελού. Διαχείριση του πόνου Σπονδυλικής προέλευσης"

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών – Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δεκέμβριος 2017

Εκπαίδευση στη Βασική ΚΑΡΠΑ (BLS)

Ελληνική Καρδιολογική Εταιρεία - European Resuscitation Council

Οκτώβριος 2016 – Νοέμβριος 2016

Σχολείο Αεροπορικής Νοσηλευτικής και Αεροδιακομιδών – 23^η Σειρά

Κέντρο Αεροπορικής Ιατρικής – Πολεμική Αεροπορία

Οκτώβριος 2016

Σχολείο Εκπαίδευσης Θαλάσσιας Επιβίωσης – 19η Σειρά

Διοίκηση Αεροπορικής Εκπαίδευσης – Πολεμική Αεροπορία

Μάρτιος 2016 – Σεπτέμβριος 2016

Παιδιατρικοί Νοσηλευτές Υγείας στη Διαχείριση του πόνου στα παιδιά

Μετεκπαιδευτικό Πρόγραμμα του τμήματος Νοσηλευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών - Καθηγήτρια Βασιλική Μάντζου Μεγαπάνου

Φεβρουάριος 2014

Εκπαίδευση στη Βασική ΚΑΡΠΑ (BLS)

Κέντρο Εκπαίδευσης Υγειονομικού Προσωπικού Αεροπορίας

Ιανουάριος 2014

Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα PHTLS

Επιτυχής ολοκλήρωση προγράμματος Prehospital Trauma Life Support (NAEMT).

Σεπτέμβριος 2009 – Ιούλιος 2013

Πτυχίο Πανεπιστημιακής Νοσηλευτικής

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Βαθμός πτυχίου: «Λίαν Καλώς» (7,06)

Σεπτέμβριος 2009 – Οκτώβριος 2013

Σχολή Αξιωματικών Νοσηλευτικής (ΣΑΝ)

- Ευδόκιμη φοίτηση και ολοκλήρωση της στρατιωτικής σχολής
- Κατάταξη στο σώμα της Πολεμικής Αεροπορίας
- Αποφοίτηση με το βαθμό του Ανθυποσημηναγού

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Μητρική γλώσσα

Αγγλικά

Γερμανικά

Ελληνικά

Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου MICHIGAN – C2

Zertifikat Deutsch του Ινστιτούτου GOETHE – B2

Γνώσεις Η/Υ

Μαθήματα Προπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών

- 1) Εισαγωγή στην Πληροφορική
- 2) Πληροφορική της Υγείας
- 3) Πληροφοριακά Συστήματα Νοσοκομείων
- 4) Βιοϊατρική Πληροφορική και Τεχνολογία

Δίπλωμα οδήγησης

▪ Δίπλωμα οδήγησης κατηγορίας Β (ΙΧ αυτοκίνητα)

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Συνέδρια, Σεμινάρια και δημοσιευμένες σε αυτά εργασίες

Συμμετοχή και δημοσίευση στα ακόλουθα:

- Β. Ντάφου, Γ. Καρκαλέτσος, «Νοσηλευτική Αξιολόγηση του Μετεγχειρητικού Πόνου στα Παιδιά», 2^ο Πολυθεματικό Νοσηλευτικό Συμπόσιο, 3/2019, Μουζάκι, Καρδίτσα
- Γ. Καρκαλέτσος, Β. Ντάφου, «Κάπνισμα και Παιδί - Ο ρόλος του Ιατρού και του Νοσηλευτή στην Πρωτοβάθμια Υγεία», 2^ο Πολυθεματικό Νοσηλευτικό Συμπόσιο, 3/2019, Μουζάκι, Καρδίτσα
- Ντάφου Βασ. Κατωπόδη Θ, Παννούσα Αντ, Ζακάκη Ελ, Σφήκας Σπ, «Αρτηριοφλεβικές δυσπλασίες εγκεφάλου», 9^η Επιστημονική Συνάντηση Νοσηλευτών Νευροχειρουργικής, 29^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νευροχειρουργικής, 5/2015, Αθήνα
- Γ. Καρκαλέτσος, Β. Ντάφου, «Ιατρός και νοσηλευτής απέναντι στις ψυχικές επιπτώσεις του καρκίνου στον ασθενή», 20^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, 5/2014, Θεσσαλονίκη
- Γ. Καρκαλέτσος, Β. Ντάφου, «Καρδιακές αρρυθμίες και νοσηλευτικές ευθύνες», 19^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, 19-21/4/2013, Πάτρα

Παρακολούθηση στα ακόλουθα

- 26^ο Πολυθεματικό Ιατρικό Συμπόσιο, 251 Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας, 21-22/11/2017, Αθήνα
- 13^ο Συμπόσιο Εντατικής Ιατρικής Ενόπλων Δυνάμεων, 5/2015, Αθήνα
- 15^ο Εντατική θεραπεία και Επείγουσα ιατρική, Μηχανική Υποστήριξη οργανικών συστημάτων, 11/2012, Αθήνα
- 14^η Ετήσια Ημερίδα-Μετεκπαιδευτικό Μάθημα Καρκίνου του Μαστού, 10/2011, Αθήνα
- 3^ο Νοσηλευτικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων, 2/2010, Αθήνα

Περίληψη

Τα μικρογλοιακά κύτταρα αποτελούν ενδογενή κύτταρα ανοσίας του κεντρικού νευρικού συστήματος και εμπλέκονται στην ανοσολογική επιτήρηση, την άμυνα και τη διατήρηση της ομοιόστασης εντός αυτού, υπό φυσιολογικές συνθήκες. Σε περίπτωση όμως βλάβης του νωτιαίου μυελού τα μικρογλοιακά κύτταρα ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο. Η αντίδραση αυτή των κυττάρων της μικρογλοίας είναι διττής φύσεως και επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την εξέλιξη της βλάβης. Τα μικρογλοιακά κύτταρα επιτελούν μεγάλης σημασίας λειτουργίες κατά την βλάβη του νωτιαίου μυελού και οι διακριτοί τους ρόλοι έχουν περιγραφεί με μεγαλύτερη ακρίβεια τα τελευταία χρόνια. Προκαλούν μια μη ειδική ανοσοαπόκριση που μπορεί να επιδεινώσει την όποια βλάβη, αλλά είναι επίσης απαραίτητα για την αποκατάσταση και επισκευή του νωτιαίου μυελού. Η παρούσα ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας περιγράφει την αντίδραση της μικρογλοίας μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού, τις συγκεκριμένες ευεργετικές ή επιβλαβείς λειτουργίες που αυτή επιτελεί καθώς και την αλληλεπίδραση των μικρογλοιακών κυττάρων με άλλα κύτταρα στην περιοχή της βλάβης.

Λέξεις κλειδιά: μικρογλοιακά κύτταρα, μικρογλοία, βλάβη νωτιαίου μυελού

Abstract

Microglial cells are endogenous immune cells of the central nervous system (CNS) and are involved in immune surveillance, defense and maintenance of homeostasis within it, under normal conditions. However, in the event of a spinal cord injury, the microglial cells respond differently. This reaction of microglial cells is dual in nature and greatly affects the progression of the injury. Microglial cells perform important functions in spinal cord injury and their distinct roles have been described more accurately in recent years. They elicit a non-specific immune response that can aggravate any damage, but are also necessary for spinal cord repair and restoration. The present review of the recent literature describes the reaction of microglia after spinal cord injury, the specific beneficial or harmful functions it performs as well as the interaction of microglia cells with other cells in the area of the lesion.

Key words: microglial cells, microglia, spinal cord injury

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη.....	5
Abstract	6
Εισαγωγή.....	8
Κεφάλαιο 1^ο : Η Μικρογλοία.....	10
1.1 Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.....	10
1.2 Ο όρος Μικρογλοία.....	11
1.3 Η προέλευση της μικρογλοίας από τη μυελική σειρά	12
1.4 Οι φαινότυποι της μικρογλοίας.....	14
1.4.1. «Λανθάνουσα» κατάσταση	15
1.4.2. «Ενεργοποιημένη» κατάσταση.....	17
1.4.3. Αναπάντητα ερωτήματα	19
Κεφάλαιο 2^ο : Η Αντίδραση της Μικρογλοίας στη Βλάβη του Νωτιαίου	
Μυελού	20
2.1 Κακώσεις νωτιαίου μυελού.....	20
2.2 Η φλεγμονώδης αντίδραση μετά τη βλάβη του νωτιαίου μυελού	24
2.3 Διάκριση μεταξύ μονοκύτταρων-μακροφάγων και μικρογλοιακών κυττάρων..	28
2.4 Οι αλληλεπιδράσεις της μικρογλοίας μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού ...	30
2.4.1 Αλληλεπίδραση με νευράξονες	30
2.4.2 Φαγοκυττάρωση	31
2.4.3 Αλληλεπίδραση με τα μονοκύτταρα-μακροφάγα	32
2.4.4 Εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων και απώλεια της οργάνωσης νευροπροστατευτικού ιστού.	33
3. Συμπεράσματα.....	39
Βιβλιογραφία	40

Εισαγωγή

Η βλάβη του νωτιαίου μυελού (Spinal Cord Injury - SCI) αποτελεί μία σοβαρή κατάσταση που οδηγεί σε πλήρη ή μερική απώλεια κινητικών και αισθητικών λειτουργιών κάτω από το επίπεδο της βλάβης, επηρεάζοντας επιπλέον τις λειτουργίες του αυτόνομου νευρικού συστήματος, απαιτεί δε την προσπάθεια ανεύρεσης πιο αποτελεσματικών θεραπειών από τις ήδη υπάρχουσες. Η συχνότητα εμφάνισης SCI ποικίλλει, όντας μικρότερη στις ανεπτυγμένες χώρες, και το κόστος της αντιμετώπισης των ασθενών αυτών για το σύστημα υγείας είναι εξαιρετικά υψηλό. Για παράδειγμα, στην Ισπανία για το έτος 2007 το ετήσιο κόστος κυμάνθηκε μεταξύ 131 με 302 εκατομμύρια ευρώ, ενώ στις ΗΠΑ ανέρχεται στα 10 δισεκατομμύρια ετησίως. Ασθενείς με βλάβη του νωτιαίου μυελού υφίστανται σοβαρές επιπτώσεις που αφορούν την κινητικότητα, την κοινωνική δραστηριότητα αλλά και την ψυχική τους υγεία. Λόγω μιας σχετικά μικρής μέσης ηλικίας εμφάνισης, η SCI πέρα από το μεγάλο αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών, ασκεί επίσης μεγάλη πίεση στο σύστημα υγείας. Η παθοφυσιολογία της βλάβης του νωτιαίου μυελού περιλαμβάνει απώλεια νευραξόνων, αποδόμηση μυελίνης, οξειδωτικό στρες, φλεγμονώδη απόκριση, διάσπαση του φράγματος αίματος-νωτιαίου μυελού με διήθηση της περιοχής από κύτταρα του ανοσοποιητικού και ενεργοποίηση αυτών, παραγωγή διαφόρων κυτοκινών και κυτταρικό θάνατο. (Anwar et al., 2016)

Τα κύτταρα της μικρογλοίας, τοποθετημένα διάσπαρτα σε όλο το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στον μηχανισμό της ανταπόκρισης του οργανισμού στη SCI. Ως κύριος διαμεσολαβητής της έμφυτης ανοσοαπόκρισης του ΚΝΣ, η μικρογλοία παίζει σημαντικό ρόλο στη νευροφλεγμονή. Η πρωτογενής ιστική

βλάβη που προκαλείται από το μηχανικό τραυματισμό επιπλέκεται περαιτέρω και επιδεινώνεται από την επίδραση δευτερευόντων γεγονότων, τα οποία περιλαμβάνουν τη φλεγμονώδη αντίδραση, την αιμορραγία, την ισχαιμία, το οίδημα, την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και την υπεροξειδωση λιπιδίων. Η απελευθέρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS) και φλεγμονωδών παραγόντων προκαλούν την ενεργοποίηση της μικρογλοίας (Zhou et al., 2018). Σε αυτή την ανασκόπηση θα διερευνήσουμε την αντίδραση των μικρογλοιακών κυττάρων στη βλάβη του νωτιαίου μυελού.

Κεφάλαιο 1^ο : Η Μικρογλοία

1.1 Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), μέρος του οποίου αποτελεί και ο Νωτιαίος Μυελός, αποτελείται από δύο διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς: τους νευρώνες και τα κύτταρα της γλοίας. Η δεύτερη κατηγορία κυττάρων διακρίνεται περαιτέρω στην μακρογλοία, η οποία περιλαμβάνει τα αστροκύτταρα και τα ολιγοδενδροκύτταρα, και την μικρογλοία. Τα κύτταρα της μακρογλοίας όπως και οι νευρώνες προέρχονται από το εξώδερμα και πιο συγκεκριμένα από το νευρικό σωλήνα. Από την άλλη, τα κύτταρα της μικρογλοίας προέρχονται από την μυελική σειρά, όπως και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, και εγκλωβίζονται μηχανικά στο ΚΝΣ κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη (Alberts et al., 2002). Συνεπώς πρόκειται για ένα ξεχωριστό πληθυσμό του ΚΝΣ από πλευράς εμβρυϊκής προέλευσης (μεσόδερμα) αλλά και λειτουργίας, αφού είναι υπεύθυνα για μεγάλο μέρος της ανοσολογικής απόκρισης στο ΚΝΣ (Colonna & Butovsky, 2017). Η ανοσολογική απόκριση του ΚΝΣ διακρίνεται σε δύο είδη: τη μη ειδική-έμφυτη ανοσολογική απόκριση, η οποία επάγεται από τα αστροκύτταρα και τα μικρογλοιακά κύτταρα, και την ειδική-επίκτητη η οποία επάγεται από λεμφοκύτταρα. Επιπρόσθετα, ο νωτιαίος μυελός, όπως και όλο το ΚΝΣ, προστατεύεται από την περιφέρεια χάρη στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (ΑΕΦ), ο οποίος κατατάσσεται στη μη ειδική ανοσολογική άμυνα. Αυτός ο εκλεκτικά διαπερατός φραγμός σχηματίζεται από τα ενδοθηλιακά

κύτταρα των τριχοειδών αγγείων, τα οποία σχηματίζουν μεταξύ τους στενές συνδέσεις (Waisman et al., 2015).

1.2 Ο όρος Μικρογλοία

Ο όρος “Μικρογλοία” αναφέρεται για πρώτη φορά ως τίτλος κεφαλαίου του βιβλίου “Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System”, που εκδόθηκε από τον Wilder Penfield το 1932. Στο πρωτοπόρο αυτό άρθρο ο Pio del Rio Hortega παρουσίασε τη μικρογλοία ως ένα σαφώς διακριτό κυτταρικό πληθυσμό του κεντρικού νευρικού συστήματος. Συνοπτικά αναφέρει: α) τα κύτταρα της μικρογλοίας εισέρχονται στο ΚΝΣ πρώιμα κατά την ανάπτυξή του, β) έχουν αμοιβαδοειδή μορφολογία και προέλευση από το μεσόδερμα, γ) χρησιμοποιούν τα αγγεία και τις μήνιγγες ως δομές οδηγούς για την μετανάστευσή τους στις διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, δ) μετατρέπονται σε διακλαδωτά κύτταρα με αποφύσεις στο ώριμο ΚΝΣ, ε) κάθε διακλαδωτό κύτταρο φαίνεται να καταλαμβάνει και να περιφρουρεί την δική του περιοχή, στ) μετά από ένα παθολογικό γεγονός αυτά τα κύτταρα μπορούν να μετασχηματίζονται από διακλαδωτά σε αμοιβαδοειδή, ζ) τα μετασχηματισμένα αμοιβαδοειδή κύτταρα είναι όμοια με αυτά που απαντώνται κατά την πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου, η) τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα να μεταναστεύουν, να πολλαπλασιάζονται και να φαγοκυτταρώνουν (Kettenmann et al., 2011). Για δεκαετίες, η μικρογλοία δεν βρισκόταν στο επίκεντρο της έρευνας των νευροεπιστημών, μέχρι την πρωτοποριακή δουλειά του Georg Kreutzberg και των συνεργατών του. Κατάφεραν να μελετήσουν τη διαδικασία ενεργοποίησης της μικρογλοίας, γεγονός που αναζοπύρωσε την έρευνα στο πεδίο αυτό (Wolf et al., 2017).

Παρά το γεγονός πως οι παραδοχές του Pio del Rio Hortega έγιναν τον 20ο αιώνα, οι περισσότερες παρατηρήσεις του ισχύουν μέχρι σήμερα.

Τα μικρογλοιακά κύτταρα αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% του συνόλου των κυττάρων του ΚΝΣ, και είναι ο πολυπληθέστερος πληθυσμός μονοκύτταρων φαγοκυττάρων σε αυτό (Colonna & Butovsky, 2017). Σήμερα, τα κύτταρα της μικρογλοίας θεωρούνται ως τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα του νευρικού ιστού, ενώ φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεση πολλών νευροεκφυλιστικών, και φλεγμονωδών νόσων του ΚΝΣ (Ginhoux et al., 2010). Η μελέτη των μικρογλοιακών κυττάρων αποτελεί κεντρικό αντικείμενο έρευνας των νευροεπιστημόνων τις τελευταίες δεκαετίες. Οι λόγοι αφορούν τη μορφολογική πλαστικότητα τους, την ικανότητα να ενεργοποιούνται από ποικίλα ερεθίσματα (σηπτικά ή άσηπτα) και της μεγάλης σημασίας των διάφορων λειτουργιών που επιτελούν τόσο στον υγιή όσο και στον παθολογικό νευρικό ιστό (Colonna & Butovsky, 2017).

1.3 Η προέλευση της μικρογλοίας από τη μυελική σειρά

Η προέλευση των κυττάρων της μικρογλοίας έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Ο Pio del Rio Hortega περιέγραψε πως τα κύτταρα της μικρογλοίας δεν είναι ούτε νευρικά ούτε αστρογλοιακά. Υποστήριξε μάλιστα την προέλευσή τους από το μεσόδερμα (Wolf et al., 2017). Για αρκετά χρόνια υπήρχε η παραδοχή πως τα κύτταρα της μικρογλοίας, τα αστροκύτταρα και τα ολιγοδενδροκύτταρα προέρχονται από κάποιο κοινό κυτταρικό πρόγονο. Όμως, οι υποστηρικτές της προέλευσης των μικρογλοιακών κυττάρων από το μεσόδερμα, βασιζόμενοι στις παρατηρήσεις και την υπόθεση του Hortega, απέδειξαν, με τη χρήση συνδυασμού φωτονικής-ηλεκτρονικής μικροσκοπίας

και ανοσοϊστοχημείας ότι η μικρογλοία, σε διάφορα στάδια ανάπτυξης, φέρει μορφολογικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά των μονοκύτταρων μακροφάγων. Παράδειγμα αποτελεί η ανεύρεση στη μικρογλοία ανοσοϊστοχημικών δεικτών των μονοκύτταρων μακροφάγων, όπως F4/80, CD11b και του Fc υποδοχέα (Ginhoux & Prinz, 2015).

Οι φαινοτυπικές ομοιότητες μεταξύ των μικρογλοιακών κυττάρων και των μονοκύτταρων μακροφάγων της κυκλοφορίας οδήγησε στην ευρύτερη αποδοχή της μυελογενούς προέλευσής τους. Η πραγματική όμως ταυτότητα των προγονικών κυττάρων της μικρογλοίας παρέμενε αμφιλεγόμενη μέχρι πρόσφατα. Μελέτες σε πειραματικές σειρές ποντικών ανέδειξαν πως τα προγονικά κύτταρα των μικρογλοιακών κυττάρων προέρχονται από το λεκιθικό ασκό. Ο εποικισμός του μυελού ξεκινά ήδη από την ένατη εβδομάδα της κύησης. Όμως πληθυσμοί καλά διαφοροποιημένων μικρογλοιακών κυττάρων μπορούν να ανιχνευθούν στο κεντρικό νευρικό σύστημα από τουλάχιστον από την τριακοστή πέμπτη εβδομάδα (Ginhoux & Prinz, 2015).

Η προέλευση των μικρογλοιακών κυττάρων πιστοποιήθηκε με την μελέτη της έκφρασης του CSF-1R, υποδοχέα υπεύθυνου για την ανάπτυξη των μυελοκυττάρων/μακροφάγων, του οποίου η γενετική εξάλειψη σε ποντίκια είχε αποτέλεσμα την απουσία αμφοτέρων των μυελοκυττάρων και των μικρογλοιακών κυττάρων (Schulz et al., 2012). Στη μελέτη αυτή υπογραμμίστηκε και το γεγονός ότι τα προγονικά κύτταρα της μικρογλοίας που προέρχονται από το λεκιθικό ασκό, αποτελούν διακριτό πληθυσμό από τα υπόλοιπα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα.

Οι ανωτέρω μελέτες παρέχουν αδιαμφισβήτητα στοιχεία περί της μυελικής προέλευσης της μικρογλοίας και διακρίνουν τα μικρογλοιακά κύτταρα ως ξεχωριστό κυτταρικό πληθυσμό.

1.4 Οι φαινότυποι της μικρογλοίας

Τα μικρογλοιακά κύτταρα αποτελούν ένα σύστημα υπεύθυνο για την διατήρηση της ομοιόστασης και της ανοσολογικής επιτήρησης του ΚΝΣ. Η μικρογλοία σχηματίζει ένα δίκτυο σύνθετων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων της και των υπολοίπων κυττάρων του ΚΝΣ. Στο φυσιολογικό ΚΝΣ, τα μικρογλοιακά κύτταρα προσλαμβάνουν μια διακλαδωμένη μορφολογία, με μικρό μέγεθος σώματος και λεπτές κυτταροπλασματικές απολήξεις. Η μορφολογία αυτή είναι αρκετά διαφορετική από αυτή ενός μονοκύτταρου μακροφάγου. Σε περιστάσεις λοίμωξης του ΚΝΣ, νευροεκφυλιστικών παθήσεων, ισχαιμίας ή τραυματισμού του ΚΝΣ, ή άλλης κατάστασης που επηρεάζει την ομοιόστασή του, προκαλείται η μετατροπή ή ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων με αποτέλεσμα την αλλαγή της μορφολογίας τους σε αμοιβαδοειδή. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε πως κάθε στιγμή, το κάθε μικρογλοιακό κύτταρο μπορεί να βρίσκεται σε τελείως διαφορετική κατάσταση σε σχέση με τα υπόλοιπα και να επιτελεί διαφορετική λειτουργία (Kettenmann et al., 2011).

Η μικρογλοία λοιπόν, στα πλαίσια του ανοσολογικού της ρόλου, ανάλογα με τα ερεθίσματα που δέχεται εμφανίζει διαφορετικούς φαινοτύπους. Μέχρι πρόσφατα ήταν γενικά αποδεκτό πως οι φαινότυποι αυτοί είναι δύο, κατά αντιστοιχία με τους M1/M2 φαινοτύπους των μονοκύτταρων-μακροφάγων: α) η «αδρανής» ή «λανθάνουσα»

κατάσταση ("quiescent" or "resting" state) με διακλαδωμένη μορφή (ramified) και β) η «ενεργοποιημένη» κατάσταση ("activated" state) με αμοιβαδοειδή μορφή (Yu et al., 2020).

Η παραπάνω διάκριση θεωρείται πλέον υπεραπλουστευμένη, αν και χρησιμοποιείται ευρέως στη βιβλιογραφία. Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί 6 διαφορετικοί φαινότυποι σε επίπεδο μορφολογίας και δραστηριότητας (M0, M1, M2a, M2b, M2c, M2d). Επιπλέον οι όροι «λανθάνουσα» και «ενεργοποιημένη» δεν αντικατοπτρίζουν απόλυτα την πραγματικότητα, καθώς η μικρογλοία δεν παύει ποτέ να έχει ενεργό ρόλο, αφού ακόμη και στη «λανθάνουσα» κατάσταση επιτελεί την επιτήρηση του ΚΝΣ. Ίσως είναι πιο σωστή η διάκριση σε προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη φαινότυπο (Kettenmann et al., 2011). Παρά τη διάκριση μεταξύ των φαινοτύπων των μικρογλοιακών κυττάρων, θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι τα μικρογλοιακά κύτταρα κινούνται μέσα σε ένα φαινοτυπικό φάσμα και δεν έχουμε να κάνουμε με αυστηρή μετάπτωση μεταξύ του ενός ή του άλλου φαινοτύπου (Kettenmann et al., 2011, Yu et al., 2020).

1.4.1. «Λανθάνουσα» κατάσταση

Τα μικρογλοιακά κύτταρα που βρίσκονται σε «λανθάνουσα» ή «διακλαδωμένη» κατάσταση, δεν είναι αδρανή. Έχουν ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του ΚΝΣ. Οι απολήξεις των μικρογλοιακών κυττάρων, με μήκος τουλάχιστον δύο φορές τη διάμετρο του σώματος, εμφανίζουν έντονη κινητικότητα και επιτηρούν ενεργά το μικροπεριβάλλον τους. Επιμηκύνονται, βραχύνουν ή δημιουργούνται νέες από το σώμα του κυττάρου διαρκώς και ανιχνεύουν οποιαδήποτε διαταραχή της ομοιόστασης εντός

του ΚΝΣ. Είναι, θα μπορούσαμε να πούμε, σε εγρήγορση, έτοιμα να μεταπέσουν στην «ενεργοποιημένη» κατάσταση όταν ανιχνεύσουν οποιαδήποτε απειλή για το ΚΝΣ. Πέρα από τη λειτουργία της επιτήρησης της ομοιόστασης, τα μικρογλοιακά κύτταρα που βρίσκονται στη «λανθάνουσα» κατάσταση έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν προστασία και τροφική υποστήριξη στα νευρικά κύτταρα, ακόμη και να μειώσουν την ενεργοποίηση των συνάψεων, όταν είναι απαραίτητο (Kettenmann et al., 2011). Η έκκριση παραγόντων από τη μικρογλοία που βρίσκεται στην «αδρανή» κατάσταση είναι σχετικά περιορισμένη σε σχέση με την «ενεργοποιημένη». Παρά ταύτα, τα μικρογλοιακά κύτταρα εκκρίνουν ορισμένους νευροτροφικούς παράγοντες, όπως οι IGF-1 (insulin-like growth factor 1), TGFb (transforming growth factor beta), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), NGF (nerve growth factor). Επιπλέον εκφράζονται υψηλά επίπεδα microRNA-124, αλλά και χαμηλά επίπεδα CD46, MHC-II (major histocompatibility complex II) και CD11b. (Kabba et al., 2018).

Σε ένα υγιές ΚΝΣ τα μικρογλοιακά κύτταρα παραμένουν στη «λανθάνουσα» κατάσταση μέσω παραγόντων που εκκρίνονται από τους νευρώνες και άλλα κύτταρα. Τέτοιοι παράγοντες είναι ο CX3CL1 (neuron-derived fractal kine) που εκκρίνεται από τους νευρώνες και προσδένεται στους υποδοχείς CX3CR1 της μικρογλοίας, οι μεμβρανικές πρωτεΐνες επιφανείας των νευρώνων CD47, CD200, CD22 που αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς CD172, CD200R, CD45 στην επιφάνεια των μικρογλοιακών κυττάρων και μόρια που αναστέλλουν την ανοσολογική απόκριση τα οποία εκκρίνονται από νευρώνες, αστροκύτταρα ή άλλα μικρογλοιακά κύτταρα (π.χ. νευροτροφίνες και προσταγλανδίνες) (Hammond et al., 2018, Kabba et al., 2018).

1.4.2. «Ενεργοποιημένη» κατάσταση

Η «ενεργοποιημένη» μικρογλοία μπορεί να έχει ευεργετική ή καταστροφική επίδραση στο ΚΝΣ και διακρίνεται σε δύο υποκατηγορίες. Η πρώτη υποκατηγορία είναι η M1 ή «κλασικά ενεργοποιημένη» μικρογλοία και η δεύτερη η M2 ή «εναλλακτικά ενεργοποιημένη» μικρογλοία. Ο τρόπος της ενεργοποίησης εξαρτάται από το είδος, την ένταση και τη διάρκεια του ερεθίσματος που την εκκινεί, αλλά και από παράγοντες στο μικροπεριβάλλον του μικρογλοιακού κυττάρου (Hammond et al., 2018, Kabba et al., 2018). Η ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων αφορά ουσιαστικά την υιοθέτηση ενός προφλεγμονώδους ή αντιφλεγμονώδους φαινοτύπου με έκκριση αντίστοιχων κυτταροκινών, κινητοποίηση και συγκέντρωση σε συγκεκριμένες περιοχές εντός του ΚΝΣ, πολλαπλασιασμό και μετασχηματισμό από μία διακλαδωμένη σε μία πιο αμοιβαδοειδή μορφή, μέσω αλλαγών στο σχήμα του σώματος και των απολήξεων (Franco & Fernández-Suárez, 2015, Jurga et al., 2020).

1.4.2.1 «Κλασικά ενεργοποιημένη» μικρογλοία: M1

Η «κλασικά ενεργοποιημένη» M1 μικρογλοία είναι προφλεγμονώδης. Εκκρίνει προφλεγμονώδη μόρια, όπως IL-1 β , IL-2, INF γ , CXCL9, CXCL10, iNOS και κυκλοοξυγενάση 2 (COX2). Η M1 κατάσταση επάγεται *in vivo* από παράγοντες όπως λιποπολυσακχαρίτες (LPS), ιντερφερόνη- γ (IFN- γ) και βακτηριακά ή κυτταρικά αντιγόνα με συγκεκριμένα μοριακά πρότυπα που συνδέονται με παθογόνα (PAMPs: pathogen associated molecular patterns) ή ιστική βλάβη (DAMPs: damage associated molecular patterns). Μορφολογικά χαρακτηρίζεται από σχετικά ισομετρικό αμοιβαδοειδές σχήμα που διευκολύνει το σχηματισμό φαγοσωμάτων από τα

μικρογλοιακά κύτταρα (Franco & Fernández-Suárez, 2015, Hammond et al., 2018, Jurga et al., 2020).

1.4.2.2 «Εναλλακτικά ενεργοποιημένη» μικρογλοία: M2

Η «εναλλακτικά ενεργοποιημένη» M2 μικρογλοία έχει αντιφλεγμονώδη επίδραση. Αυτή οφείλεται στην αυξημένη έκφραση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-4, IL-10, IL-13 και TGF-β, και αργινάση-1 (Arg1). Η «εναλλακτική» ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων είναι περίπλοκη διαδικασία και διακρίνεται περαιτέρω σε τρεις υποκατηγορίες: τη M2α, τη M2β και τη M2γ. Μορφολογικά τα M2 μικρογλοιακά κύτταρα έχουν πιο μακρόστενο σχήμα σε σχέση με τα M1, και υψηλότερα επίπεδα F-ακτίνης, τα οποία ενισχύουν τη δημιουργία φαγοσωμάτων δίνοντας στα κύτταρα τη δυνατότητα φαγοκυττάρωσης. Ο φαινότυπος M2α συμμετέχει στην επιδιόρθωση και την αναγέννηση του νευρικού ιστού, δρα μακροπρόθεσμα και επάγεται από παρασιτικά παραπροϊόντα ή σχετιζόμενα σηματοδοτικά μόρια όπως οι IL-3 και IL-4. Ο M2β συμμετέχει στην ανοσολογική ρύθμιση, επάγεται δε από την ενεργοποίηση των FCγ (Fragment crystallisable γ) υποδοχέων, των TLR (toll-like receptors) υποδοχέων και από ανοσοσυμπλέγματα. Ο M2c είναι φαινότυπος απενεργοποίησης, συμμετέχει δηλαδή στην καταστολή της φλεγμονής και επάγεται σε απάντηση σε συγκεκριμένους αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η IL-10, ο TGF-β και τα γλυκοκορτικοειδή (Franco & Fernández-Suárez, 2015, Kabba et al., 2018).

1.4.3. Αναπάντητα ερωτήματα

Μεγάλο μέρος των γνώσεων που έχουμε σήμερα για τα μικρογλοιακά κύτταρα, προέρχεται από *in vitro* πειράματα. Για το λόγο αυτό δεν είναι ακόμη σαφής η ακριβής διαδικασία μέσω της οποίας ενεργοποιείται ο κάθε φαινότυπος και πώς αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Έχει αναφερθεί πως κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση της φυσιολογικής διαδικασίας επούλωσης μιας τραυματικής βλάβης του νωτιαίου μυελού, συνυπήρχε ένα μίγμα M1 και M2α φαινοτύπων μικρογλοιακών κυττάρων, χωρίς να έχει διευκρινιστεί η μεταξύ τους αλληλεπίδραση (Franco&Fernández-Suárez, 2015, Yu et al., 2020). Συνεπώς, παρά τη διεύρυνση των γνώσεών μας για τα μικρογλοιακά κύτταρα, εξακολουθούν να υπάρχουν πολλά αναπάντητα ερωτήματα για το ρόλο τους τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες.

Κεφάλαιο 2^ο : Η Αντίδραση της Μικρογλοίας στη Βλάβη του Νωτιαίου Μυελού

2.1 Κακώσεις νωτιαίου μυελού

Ο νωτιαίος μυελός αποτελεί μέρος του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) και εντοπίζεται στα άνω δύο τρίτα της σπονδυλικής στήλης, εντός του μυελικού σωλήνα. Η λειτουργία που εξυπηρετεί είναι η μεταφορά κινητικών εντολών από τον εγκέφαλο προς το σώμα, αισθητηριακών πληροφοριών από το σώμα προς τον εγκέφαλο καθώς και ο συντονισμός των αντανακλαστικών. Ο διαχωρισμός των νευρικών κυττάρων από τις νευρικές ίνες προσδίδει ένα χαρακτηριστικό σχήμα γράμματος «H», το οποίο είναι εμφανές σε εγκάρσια διατομή του νωτιαίου μυελού. Τα σώματα των κινητικών και αισθητικών νευρώνων, των διάμεσων νευρώνων και της γλοίας συγκροτούν τη φαιά ουσία, ενώ η λευκή ουσία σχηματίζεται ουσιαστικά από τους εμύελους νευράξονες. Διακρίνονται τέσσερις προεκτάσεις της φαιάς ουσίας μέσα στη λευκή ουσία, οι οποίες είναι γνωστές ως πρόσθια και οπίσθια κέρατα (Harrow-Mortelliti et al., 2020). Τα οπίσθια κέρατα είναι η περιοχή στην οποία διακρίνονται πολλοί κεντρομόλοι νευρώνες, οι οποίοι δέχονται τα ερεθίσματα από τους υποδοχείς του σώματος. Είναι επίσης το σημείο όπου εκφύονται οι ανιούσες αισθητικές οδοί, η οποίες με την σειρά τους μεταφέρουν τα αισθητικά ερεθίσματα από τους κεντρομόλους νευρώνες προς στον εγκέφαλο. Από την άλλη, τα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού περιέχουν τους κινητικούς νευρώνες, οι οποίοι νευρώνουν τους γραμμωτούς μυς (Adigun et al., 2020).

Η κάκωση του νωτιαίου μυελού (Spinal Cord Injury – SCI) ορίζεται ως η βλάβη στο νωτιαίο μυελό, η οποία, είτε παροδικά είτε μόνιμα, προκαλεί αλλαγές στη φυσιολογική λειτουργία του. Οι κακώσεις του νωτιαίου μυελού έχουν καταστροφικές επιπτώσεις για τους ασθενείς, σε σωματικό, ψυχολογικό, επαγγελματικό και οικογενειακό επίπεδο. Η απώλεια της ατομικής ανεξαρτησίας και τα αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας των ασθενών αυτών επίσης χαρακτηρίζουν τις βλάβες του νωτιαίου μυελού (Ahujaetal., 2017).

Συνοπτικά, σε παθοφυσιολογικό επίπεδο, η βλάβη του νωτιαίου μυελού μπορεί να διακριθεί σε δύο φάσεις, την πρωτογενή και τη δευτερογενή βλάβη. Η πρωτογενής βλάβη είναι το αποτέλεσμα των φυσικών δυνάμεων που ασκήθηκαν κατά την κάκωση του ΝΜ και η έκτασή της είναι καθοριστική για τη σοβαρότητα της κάκωσης. Αφού συμβεί η πρωτογενής βλάβη, ακολουθεί μια αλληλουχία γεγονότων, τα οποία συμβάλλουν στην επέκταση της περιοχής της βλάβης στο νευρικό ιστό και τη μεγέθυνση των νευρολογικών επιπτώσεων της κάκωσης. Η δευτερογενής λοιπόν βλάβη αφορά την καθυστερημένη και προοδευτική βλάβη νευρικού ιστού, η οποία ακολουθεί την πρωτογενή βλάβη (Ahuja et al., 2017, Witiw & Fehlings, 2015).

Πρωτογενής ή Οξεία φάση τραυματισμού

Κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης τραυματισμού (<48 ώρες μετά), τα τραυματισμένα νευρογλοιακά και νευρικά κύτταρα στον νωτιαίο μυελό αρχίζουν να νεκρώνονται (απόπτωση). Τα αιμοφόρα αγγεία του νωτιαίου μυελού που επηρεάζονται από τον τραυματισμό μπορεί να χάσουν τη λειτουργία τους, γεγονός που μειώνει την παροχή αίματος στον νωτιαίο μυελό με αποτέλεσμα την ισχαιμία. Ο τραυματισμός των

αιμοφόρων αγγείων μπορεί επίσης να προκαλέσει αιμορραγία, η οποία μπορεί να εκθέσει τον νωτιαίο μυελό σε φλεγμονώδη κύτταρα, τα οποία παραμένουν στον νωτιαίο μυελό για εβδομάδες μετά τον τραυματισμό σας. Η εξαγγείωση αυτή επίσης οδηγεί σε περαιτέρω συμπίεση του νωτιαίου μυελού και επιδεινώνοντας τον αρχικό τραυματισμό (Ahuja et al., 2017, Witiw & Fehlings, 2015).

Υποξεία φάση τραυματισμού

Η δυσλειτουργία των νευρικών κυττάρων και τα προβλήματα παροχής αίματος που ξεκίνησαν στην οξεία φάση μπορεί να επιδεινωθούν περαιτέρω στην υποξεία φάση του τραυματισμού (48 ώρες έως 14 μέρες μετά). Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, η διακοπή της παροχής αίματος οδηγεί σε ανισορροπία της κυτταρικής ομοιόστασης, του κυτταρικού θανάτου και των φλεγμονωδών κυτταρικών αποκρίσεων που μπορούν να προκαλέσουν επιπλέον βλάβη στον νωτιαίο μυελό. Συγκεκριμένα, καθώς τα νευρογλοιακά και νευρικά κύτταρα εντός του νωτιαίου μυελού πεθαίνουν, απελευθερώνουν ουσίες που ενεργοποιούν άλλα κύτταρα και προσελκύουν φλεγμονώδη κύτταρα. Όταν συμβεί αυτό, ξεκινά ένας φαύλος κύκλος ανατροφοδότησης της φλεγμονώδους αντίδρασης στο σημείο της βλάβης και προάγεται περαιτέρω η καταστροφή των νευρογλοιακών και νευρικών κυττάρων. Αυτά τα επακόλουθα δευτερογενή γεγονότα μπορούν να είναι πιο σοβαρά από τον πρωταρχικό τραυματισμό (Ahuja et al., 2017).

Δευτερογενής -χρόνια φάση τραυματισμού

Μετά τη βλάβη που προκαλείται στην οξεία και την υποξεία φάση, ο νωτιαίος μυελός προσπαθεί να επιδιορθωθεί περνώντας στη χρόνια φάση μετά τον τραυματισμό (>6 μήνες μετά). Ο σχηματισμός κυστικών κοιλοτήτων και ουλών γλοίας είναι 2 τρόποι με τους οποίους ο νωτιαίος μυελός προσπαθεί να προστατευτεί στο σημείο της βλάβης. Οι κυστικές κοιλότητες σχηματίζονται αφού καταστραφεί ένας ικανός αριθμός κυττάρων, με αποτέλεσμα την απώλεια όγκου ιστού. Περιέχουν υγρό, συνδετικό ιστό και λευκά αιμοσφαίρια. Όταν επικοινωνούν μεταξύ τους, σχηματίζουν ένα φραγμό που εμποδίζει την εκ νέου ανάπτυξη των νευραξόνων και των νευρικών οδών.

Οι ουλές γλοίας έχουν προστατευτικά οφέλη για τον νωτιαίο μυελό, αλλά έχουν επίσης δυσμενείς επιπτώσεις. Οι ουλές γλοίας εμποδίζουν και αυτές την ανάπτυξη των νευραξόνων και την αποκατάσταση των νευρικών οδών. Από την άλλη, οι βοηθούν την αποκατάσταση του νωτιαίου μυελού δημιουργώντας ένα φράγμα γύρω από το τραυματισμένο τμήμα, γεγονός που βοηθά στην πρόληψη επιμολύνσεων και την αποτροπή περαιτέρω βλάβης των γύρω υγιών κυττάρων. Οι ουλές γλοίας βοηθούν επίσης στην αποκατάσταση της παροχής αίματος στον νωτιαίο μυελό.

Ένας άλλος μηχανισμός αποκατάστασης του νωτιαίου μυελού είναι η επαναμυελίνωση. Η επαναμυελίνωση συμβαίνει όταν τα νευρικά κύτταρα που επιβιώνουν δημιουργούν νέα περιβλήματα μυελίνης (το προστατευτικό κάλυμμα των νευρικών κυττάρων και των νευραξόνων) για τα κατεστραμμένα νευρικά κύτταρα. Τα νευρικά κύτταρα του νωτιαίου μυελού έχουν την ικανότητα να προσαρμόζονται (γνωστή ως πλαστικότητα) προωθώντας μια συνεχή ανάκαμψη, ενώ άλλα πρόδρομα γλοιακά κύτταρα μπορούν να δημιουργήσουν νέα νευρογλοιακά και νευρικά κύτταρα για να υποστηρίξουν την

αναγεννητική διαδικασία για χρόνια μετά τον αρχικό τραυματισμό (Ahuja et al., 2017, Witiw & Fehlings, 2015).

Παρόλα αυτά, οι παραπάνω μεταβολές που προκαλούνται από τη βλάβη του νωτιαίου μυελού, οδηγούν ανάλογα με τη σοβαρότητά τους σε πλήρη ή μερική αλλοίωση της κινητικής και αισθητικής λειτουργίας, καθώς και σε διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος.

2.2 Η φλεγμονώδης αντίδραση μετά τη βλάβη του νωτιαίου μυελού

Τα μικρογλοιακά κύτταρα, όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν ενδογενή κύτταρα ανοσίας του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ), τα οποία προέρχονται από κύτταρα του λεκιθικού ασκού που εγκαθίστανται στο ΚΝΣ κατά την εμβρυονική φάση (Forehand&Farel, 1982). Θα πρέπει να διακρίνονται από τα μακροφάγα που προέρχονται από τα μονοκύτταρα της κυκλοφορίας (μονοκύτταρα-μακροφάγα, ΜΜ), τα οποία εισέρχονται στο ΚΝΣ από το περιφερικό αίμα μετά από βλάβη, και από τα μακροφάγα που είναι εγκατεστημένα στις μήνιγγες ή τον περιαγγειακό χώρο σε φυσιολογικές ή παθολογικές συνθήκες. Αυτά τα μυελοειδή κύτταρα αποτελούν σημαντικούς ανταποκριτές στην πρώιμη βλάβη του ΚΝΣ, έχοντας ωφέλιμες αλλά και καταστροφικές λειτουργίες (Ar, 1992, N. Zhang et al., 2012). Η ενεργοποιημένη μικρογλοία και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα συνεισφέρουν στη δευτερογενή βλάβη μέσω της απελευθέρωσης προφλεγμονωδών παραγόντων όπως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Παρόλα αυτά εμφανίζουν επίσης ευεργετικές και προστατευτικές για τον ιστό επιδράσεις, όπως ο περιορισμός της επέκτασης της βλάβης,

η απομάκρυνση των υπολειμμάτων των κατεστραμμένων κυττάρων και η παραγωγή αντιφλεγμονωδών παραγόντων όπως η IL-10 (Thompson et al., 2013).

Στο φυσιολογικό νωτιαίο μυελό, τα μικρογλοιακά κύτταρα προσλαμβάνουν μια διακλαδωτή μορφολογία, έχουν χαμηλή ανοσολογική δραστηριότητα και μικρή παραγωγή κυτταροκινών. Αυτός ο φαινότυπος δεν εμποδίζει την επιτέλεση συνεχούς ανοσολογικής επιτήρησης του μικροπεριβάλλοντος μέσω της ενεργότητας των κυτταροπλασματικών τους διεργασιών (Mukhamedshina et al., 2017), γεγονός που επιτρέπει στη μικρογλοία να αντιδρά άμεσα σε διαταραχές του μικροπεριβάλλοντος. Στην περίπτωση ενός τραυματισμού, τα κύτταρα της μικρογλοίας είναι τα πρώτα που ανταποκρίνονται. Ενεργοποιούνται μέσα σε λίγα λεπτά εκκινώντας κυτταροπλασματικές διαδικασίες στο εσωτερικό τους. Η πρώτη αυτή μικρογλοιακή αντίδραση μεσολαβείται από το ATP το οποίο απελευθερώνεται από τα κατεστραμμένα κύτταρα, και το οποίο ανιχνεύεται από τους P2Y υποδοχείς στα μικρογλοιακά κύτταρα. Κατά την ενεργοποίησή τους, τα μικρογλοιακά κύτταρα υφίστανται μεταβολές στην μορφολογία τους και μετασχηματίζονται σε σφαιροειδή, «αμοιβαδοειδή» κύτταρα με κοντές, παχιές προσεκβολές, μοιάζοντας έτσι μορφολογικά στα μονοκύτταρα-μακροφάγα (Zhou et al., 2014).

Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και χημειοκίνες όπως IL-1 β , TNF, IL-6, CCL2 και CCL3 παράγονται μέσα σε λίγα λεπτά μετά τη βλάβη από τους νευρώνες, τα αστροκύτταρα και τη μικρογλοία. Παράλληλα, μοριακά μοτίβα σχετιζόμενα με βλάβη (damage-associated molecular patterns - DAMPs) αναγνωρίζονται από υποδοχείς αναγνώρισης μοτίβων (pattern recognition receptors –PRRs). Αυτό είναι ένα σύνθετο συμβάν στις ιστικές βλάβες, όταν παράγοντες που σε φυσιολογικές συνθήκες δεν θα

ερχόντουσαν σε επαφή με PRRs, είτε ενδοκυττάρια είτε εξωκυττάρια, εκτίθενται σε αυτούς λόγω της βλάβης. Οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs) αποτελούν μέρος της έμφυτης ανοσοαπόκρισης και αρχικά ανακαλύφθηκαν για το ρόλο τους στην αναγνώριση παθογόνων συνδέοντας συγκεκριμένα μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα (pathogen associated molecular patterns - PAMP) που εκφράζονται από μικρόβια. Τώρα εκτιμάται επίσης ο ρόλος των PRR στην φλεγμονή, που ανταποκρίνονται σε ενδογενή ερεθίσματα που αναφέρονται ως «μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με DAMPs» αντί για PAMP. Οι κύριες οικογένειες PRR περιλαμβάνουν υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), υποδοχείς τύπου Nod (NLR), υποδοχείς τύπου RIG (RLR), υποδοχείς τύπου AIM2 (ALRs) και υποδοχείς λεκτίνης τύπου C. Η ευρεία έκφραση αυτών των PRR στο ΚΝΣ και η απελευθέρωση DAMPs εντός και γύρω από θέσεις τραυματισμού υποδηλώνουν σημαντικό ρόλο για αυτές τις οικογένειες υποδοχέων στη διαμεσολάβηση φλεγμονής μετά τον τραυματισμό. Σημαντικά δεδομένα δείχνουν τώρα ότι οι PRRs συγκαταλέγονται μεταξύ των πρώτων ανταποκριτών στον τραυματισμό του ΚΝΣ και η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων σε μικρογλοία, νευρώνες και αστροκύτταρα προκαλεί έμφυτη ανοσοαπόκριση στον εγκέφαλο και στον νωτιαίο μυελό (Kigerl et al., 2014).

Διαφορετικές τάξεις PRRs έχουν περιγραφεί να έχουν σημαντικούς και διακριτούς ρόλους στη βλάβη του νωτιαίου μυελού. Παράδειγμα, η ενεργοποίηση των Toll-like υποδοχέων (TLRs), ιδιαίτερα του TLR2, μπορεί να προκαλέσει την ενεργοποίηση του NF-κB, κάτι που πιθανόν να έχει νευροτοξικές επιπτώσεις. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων λεκτίνης C-τύπου (CLRs) προάγει την ενεργοποίηση των μακροφάγων και τη βλάβη των νευραξόνων. Η πρωτεΐνη HMGB1 (high mobility group box 1) είναι άλλο ένα

πιθανό μοτίβο DAMP, η παρουσία του οποίου αυξάνεται στη βλάβη του νωτιαίου μυελού, και σχετίζεται με ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων και νευροτοξική δράση των μακροφάγων. Η πρωτεΐνη HMGB1 μπορεί να συνδεθεί με ένα συγκεκριμένο υποδοχέα PRR (RAGE) και να οδηγήσει έτσι σε έκφραση των IL-1β και TNF μετά την βλάβη του νωτιαίου μυελού (Tong et al., 2014).

Η έκφραση προφλεγμονωδών μορίων, όπως οι κυτταροκίνες, η κυκλοοξυγενάση-2, η συνθετάση του νιτρικού οξέος (iNOS) και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, σε συνδυασμό με το σχηματισμό και ενεργοποίηση φλεγμονοσωμάτων (πολυμοριακά κυτταροπλασματικά συμπλέγματα), συμβάλλουν στην προσέλκυση κυττάρων του ανοσοποιητικού από την περιφέρεια στο σημείο της βλάβης του νωτιαίου μυελού. Παρόμοια με άλλους τραυματισμένους ιστούς, τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα του ανοσοποιητικού που διηθούν το σημείο της βλάβης. Συνήθως ο αριθμός τους στην περιοχή της βλάβης φτάνει στο ζενίθ μία μέρα μετά τη βλάβη, και ακολουθεί η γρήγορη μείωση τους (Je et al., 2003, Noble et al., 2002).

Πολλές μελέτες έχουν αναγνωρίσει μηχανισμούς για τη στόχευση των ουδετεροφίλων ή των πρώιμα εισερχόμενων μονοκυττάρων, θεωρώντας την παρεμπόδισή τους υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση της βλάβης του νωτιαίου μυελού (de Castro et al., 2004, Neirinckx et al., 2014). Από την άλλη μεριά, άλλες μελέτες κατέγραψαν προβληματική ανάρρωση και αυξημένη καταστροφή ιστού στις περιπτώσεις που έλειπαν τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα από το σημείο της βλάβης (Dinkel et al., 2004; Nguyen et al., 2007). Τα μονοκύτταρα-μακροφάγα εισέρχονται στην περιοχή της βλάβης του νωτιαίου μυελού περίπου 2 με 3 ημέρες μετά τον τραυματισμό και ο αριθμός τους φτάνει στο ζενίθ 7 με 10 ημέρες μετά. Στη συνέχεια, αν και ο αριθμός τους στην περιοχή

μειώνεται σταδιακά, δεν μηδενίζεται. Τα μονοκύτταρα-μακροφάγα παραμένουν στον ιστό για παρατεταμένες χρονικές περιόδους. Έχουν βρεθεί μονοκύτταρα-μακροφάγα στην περιοχή έως και ένα έτος μετά τη βλάβη. Αυτή η παρατεταμένη παρουσία των ενεργοποιημένων μακροκυττάρων-μακροφάγων και της μικρογλοίας στον τραυματισμένο νωτιαίο μυελό αποτελεί παράγοντα κινδύνου για συνεχιζόμενη τοπική ιστική βλάβη (Gensel & Zhang, 2015, Neirinckx et al., 2014).

Η διήθηση μυελοειδών κυττάρων από την περιφέρεια στο σημείο βλάβης του νωτιαίου μυελού έχει κάνει δύσκολο το διαχωρισμό των μονοκύτταρων-μακροφάγων από τα μικρογλοιακά κύτταρα. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η «αμοιβαδοειδής» εμφάνιση της μικρογλοίας όταν ενεργοποιείται, κάνει τη διάκρισή της με μορφολογικά κριτήρια από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα εξαιρετικά δύσκολη.

2.3 Διάκριση μεταξύ μονοκύτταρων-μακροφάγων και μικρογλοιακών κυττάρων

Προηγούμενες προσεγγίσεις στο πρόβλημα της διάκρισης των μικρογλοιακών κυττάρων από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα περιελάμβαναν τον καθορισμό του επιπέδου έκφρασης του CD45 (δείκτης λευκοκυττάρων) με κυτταρομετρία ροής. Η μικρογλοία και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα εκφράζουν CD11b⁺ στα ίδια επίπεδα, αλλά διαφορετικά επίπεδα CD45 (μονοκύτταρα-μακροφάγα: CD11b⁺ CD45 υψηλή έκφραση, μικρογλοία: CD11b⁺ CD45 χαμηλή έκφραση). Παρόλα αυτά, η ενεργοποιημένη μικρογλοία είναι δυνατό να έχει υψηλή έκφραση του CD45 (Bellver-Landete et al., 2019, Stirling & Yong, 2008).

Πρόσφατα, ένας αριθμός ειδικών για τα μικρογλοιακά κύτταρα δεικτών έχει περιγραφεί, επιτρέποντας την καλύτερη μελέτη των μικρογλοιακών κυττάρων και της αντίδρασής τους στη βλάβη του νωτιαίου μυελού. Δείκτες που χαρακτηρίζονται ως ειδικοί για τη μικρογλοία στο ΚΝΣ περιλαμβάνουν τους P2RY12, Tmem119, FCRLS και Sall1. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε πως δεν εκφράζονται όλοι οι παραπάνω δείκτες με τρόπο σταθερό στα πλαίσια της βλάβης του νωτιαίου μυελού. Η έκφραση του P2RY12 για παράδειγμα χάνεται πρώιμα μετά τη βλάβη στο νωτιαίο μυελό (Tozaki-Saitoh et al., 2008), καθώς και στις ενεργές βλάβες της πολλαπλής σκλήρυνσης (van Wageningen et al., 2019).

Η χρήση πειραματικών μοντέλων με επίμυες (ποντικούς) αποτελεί μια επιλογή για τη διάκριση μικρογλοίας και μονοκυττάρων-μακροφάγων. Πολλά τέτοια μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της βλάβης του νωτιαίου μυελού. Παράδειγμα αποτελεί το μοντέλο ποντικών που έχουν σημασμένη με πράσινη φθορίζουσα χρωστική λυσοζύμη M (lysozyme-M enhanced green fluorescent protein, eGFP). Η eGFP εκφράζεται στα μονοκύτταρα-μακροφάγα και στα ουδετερόφιλα, αλλά όχι στα μικρογλοιακά κύτταρα, καθιστώντας το πειραματικό μοντέλο χρήσιμο για τη διάκριση μεταξύ των κυττάρων αυτών στην περίπτωση βλάβης του νωτιαίου μυελού (Du et al., 2007, Lytle et al., 2009, Mawhinney et al., 2012). Σε συνδυασμό με την ανίχνευση της έκφρασης κι άλλων δεικτών όπως FCRLS (Bradbury & Burnside, 2019, Fernandez-Zafra et al., 2019) και CD11b/CD45 (Bellver-Landete et al., 2019, Stirling & Yong, 2008), η διάκριση της μικρογλοίας από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα γίνεται πιο ξεκάθαρη.

2.4 Οι αλληλεπιδράσεις της μικρογλοίας μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού

2.4.1 Αλληλεπίδραση με νευράξονες

Η διερεύνηση των πολλών και διακριτών επιδράσεων των μικρογλοιακών κυττάρων και των μονοκύτταρων-μακροφάγων περιλαμβάνει και την προσπάθεια ανάδειξης του ρόλου τους στη βλάβη των νευραξόνων μετά από μια κάκωση στο νωτιαίο μυελό. Μια μελέτη προσπάθησε με χρήση μικροσκοπησης δύο φωτονίων σε μοντέλο ποντικών με σηματομένους με φθορίζουσα χρωστική νευράξονες, μικρογλοιακά κύτταρα και μονοκύτταρα-μακροφάγα, να διερευνήσει το ρόλο των μυελοειδών κυττάρων στην καταστροφή των νευραξόνων μετά από τραυματισμό του νωτιαίου μυελού (Wang et al., 2016). Η επαφή μεταξύ CX3CR1+ μυελοειδών κυττάρων (μικρογλοία και μονοκύτταρα-μακροφάγα) και νευραξόνων ήταν απαραίτητη για να επέλθει η βλάβη στο νευράξονα, είτε αυτή αφορά λέπτυνση είτε πλήρη διατομή αυτού, και παρατηρήθηκε στο 10% των επαφών. Το εύρημα αυτό ενισχύεται και από το γεγονός ότι σε συνθήκη έλλειψης CX3CR1 σηματοδότησης, προάγεται η επούλωση μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού. Μοντέλα χμαιοειδών ποντικών χρησιμοποιήθηκαν για τη διάκριση μεταξύ μονοκύτταρων-μακροφάγων και μικρογλοιακών κυττάρων αποκαλύπτοντας μεγάλες διαφορές στη συμπεριφορά των δύο κυτταρικών τύπων: τα μακροφάγα κινούνταν δυο φορές ταχύτερα από τη μικρογλοία και ήταν υπεύθυνα για το σύνολο των καταστροφικών για το νευράξονα επαφών. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ο συνολικός αριθμός των επαφών μακροφάγου-νευράξονα ήταν σταθερός δυο με οκτώ ημέρες μετά

τη βλάβη του νωτιαίου μυελού, παρά τη μεγάλη αύξηση του αριθμού των μονοκύτταρων-μακροφάγων στο ίδιο διάστημα (Carpenter et al., 2020, David et al., 2018, Wang et al., 2016).

2.4.2 Φαγοκυττάρωση

Με τη χρήση του πειραματικού μοντέλου ποντικών LysM-eGFP που αναφέρθηκε παραπάνω, εκτιμήθηκε η φαγοκυτταρική δραστηριότητα της μικρογλοίας και των μονοκύτταρων-μακροφάγων μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού. Η φαγοκυττάρωση των κυτταρικών θραυσμάτων αποτελεί προαπαιτούμενη διαδικασία για την ανάρρωση μετά από βλάβη στο νωτιαίο μυελό. Τις πρώτες ημέρες μετά τη βλάβη, τα μικρογλοιακά κύτταρα είναι ο κύριος φαγοκυτταρικός τύπος κυττάρου που έρχεται επίσης σε στενή επαφή με τους κατεστραμμένους νευράξονες. Όταν τα μονοκύτταρα-μακροφάγα καταφθάνουν στην περιοχή της βλάβης, έρχονται αυτά σε επαφή με τους κατεστραμμένους νευράξονες και αναλαμβάνουν το μεγαλύτερο μέρος της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας μέχρι τη 14^η ημέρα. Το φαγοκυτταρωμένο υλικό παραμένει εντός των μακροφάγων καθ' όλη τη διάρκεια παρακολούθησης (42 ημέρες) σε αντίθεση με την παροδική μόνο ανίχνευσή του εντός των μικρογλοιακών κυττάρων. Οι λόγοι πίσω από αυτό θα μπορούσαν να είναι ο δυσανάλογος αριθμός κυτταρικών θανάτων των μικρογλοιακών κυττάρων ή η καλύτερη επεξεργασία του φαγοκυτταρωμένου υλικού από τα μικρογλοιακά κύτταρα (Caravagna et al., 2016; Wieghofer & Prinz, 2016). Ο κυτταρικός θάνατος μετά από τη φαγοκυττάρωση της μυελίνης και των κυτταρικών θραυσμάτων ήταν πολύ συχνότερος για τα μονοκύτταρα-μακροφάγα συγκριτικά με τα μικρογλοιακά κύτταρα, κάτι που υποδεικνύει την καλύτερη

επεξεργασία των φαγοκυτταρωμένων υλικών ως την πιο αποδεκτή εξήγηση. Μια εναλλακτική εξήγηση θα μπορούσε να είναι η μεταστροφή των μικρογλοιακών κυττάρων σε έναν περισσότερο αντιφλεγμονώδη φαινότυπο σε μετέπειτα χρονικά σημεία από τη βλάβη (Da Pozzo et al., 2019; L. Zhang et al., 2018).

2.4.3 Αλληλεπίδραση με τα μονοκύτταρα-μακροφάγα

Στην προσπάθεια να καθορίσουμε τον τρόπο αντίδρασης της μικρογλοίας μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού, είναι σημαντικό να αντιμετωπίζουμε τις κυτταρικές διεργασίες όχι μεμονωμένα, αλλά στο πλαίσιο των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυτταρικών τύπων στο μικροπεριβάλλον του ιστού. Μία πρόσφατη μελέτη αναδεικνύει τη σημασία της αλληλεπίδρασης μεταξύ μικρογλοίας και μονοκύτταρων-μακροφάγων μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού (Kolos & Korzhevskii, 2020, Peng et al., 2016). Σε μια *in vitro* πειραματική μελέτη ανεδείχθη πως μικρογλοιακά κύτταρα και μονοκύτταρα-μακροφάγα μπορούν να αλληλοεπηρεάσουν τις λειτουργίες τους σε μεγάλο βαθμό. Μονοκύτταρα-μακροφάγα που απομονώνονται από τραυματισμένο νωτιαίο μυελό καταστέλλουν τη φαγοκυτταρική λειτουργία της μικρογλοίας, ενώ η μικρογλοία με τη σειρά της ενισχύει τη φαγοκυτταρική λειτουργία των μακροφάγων. Επιπρόσθετα, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα καταστέλλουν την επαγόμενη από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) μικρογλοιακή παραγωγή IL-1 β , TNF και IL-6, αλλά και άλλων φλεγμονωδών μορίων του μονοπατιού NF κ B, μέσω σηματοδότησης προσταγλανδίνης E₂ (PGE₂). Η μικρογλοιακή φαγοκυττάρωση δεν ήταν κατεσταλμένη στη μικρογλοία από βλάβη νωτιαίου μυελού μοντέλου ποντικών, τα οποία είτε σχεδιάστηκαν να μην έχουν μονοκύτταρα-μακροφάγα στην περιοχή της βλάβης είτε σχεδιάστηκαν να μην παράγουν PGE₂. Αυτές οι

επιδράσεις στην αλληλεπίδραση μικρογλοίας-μακροφάγων επιβεβαιώνονται στη βλάβη του νωτιαίου μυελού *in vivo*, σε μελέτη με μοντέλο ποντικών, όπου η απουσία των μονοκύτταρων-μακροφάγων από την περιοχή της βλάβης του νωτιαίου μυελού οδήγησε σε μειωμένη ανάρρωση και αύξηση της έκφρασης προφλεγμονωδών παραγόντων. Επιπλέον, η παρουσία των μονοκύτταρων-μακροφάγων δεν κατέστειλε εντελώς τη λειτουργία της μικρογλοίας, μη επηρεάζοντας την επιβίωσή της (Esposito & Cuzzocrea, 2011, Hamamoto et al., 2010, Vidal et al., 2013, Yune et al., 2003).

2.4.4 Εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων και απώλεια της οργάνωσης νευροπροστατευτικού ιστού.

Ο τρόπος αντίδρασης της μικρογλοίας μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού έχει προκαλέσει διχογνωμία και στο παρελθόν. Για το λόγο αυτό, έχει μεγάλο ενδιαφέρον η μελέτη της επίδρασης της απώλειας των μικρογλοιακών κυττάρων μέσω της χρήσης διαφορετικών αναστολέων του υποδοχέα 1 του παράγοντα διέγερσης αποικιών (CSF1R), κάτι που οδηγεί σε εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων στο ΚΝΣ (Zhao et al., 2007). Τρεις πρόσφατες μελέτες αποτίμησαν τις επιδράσεις της αναστολής του CSF1R μετά από βλάβη στο νωτιαίο μυελό. Στην πρώτη μελέτη, χρησιμοποιήθηκε μακροχρόνια θεραπεία με από του στόματος αναστολέα CSF1R, ο οποίος εμποδίζει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό μικρογλοίας και μακροφάγων σε μοντέλο ποντικών με βλάβη του νωτιαίου μυελού (Gerber et al., 2018). Η θεραπεία αυτή οδήγησε σε μικρή βελτίωση σε ότι αφορά την κινητική ανάρρωση, μειωμένη γλοίωση (γλοίωση: αντιδραστική ανάπτυξη ουλώδους ιστού πέριξ της βλάβης), και μειωμένη εμφάνιση μικροκοιλοτήτων. Προηγουμένως είχε φανεί πως ο αναστολέας επηρεάζει πρωτίστως τη μικρογλοία, σε

μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων στις οποίες και είχε νευροπροστατευτική επίδραση (Pixley & Stanley, 2004). Παρά ταύτα δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο σε ποιο βαθμό επηρεάζεται η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός των μονοκύτταρων-μακροφάγων ή πώς αυτό θα επηρέαζε την παρατηρούμενη βελτίωση στην ανάρρωση του ασθενούς (Gerber et al., 2018).

Στις δύο άλλες μελέτες, χορηγήθηκε ο PLX5622 αναστολέας του CSF1R, ο οποίος διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και οδήγησε στην εξάλειψη του 98% των μικρογλοιακών κυττάρων του άνευ βλάβης νωτιαίου μυελού. Φάνηκε επίσης πως ο PLX5622 οδηγεί σε εξάλειψη τη μικρογλοία αλλά όχι τα μονοκύτταρα-μακροφάγα (Ali et al., 2020, Spangenberg et al., 2019).

Και οι δύο μελέτες ανέδειξαν πως η εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων παρεμποδίζει την κινητική ανάρρωση στα μοντέλα ποντικών με βλάβη νωτιαίου μυελού. Το χρονικό σημείο της εξάλειψης όμως φαίνεται να έχει σημασία. Τα καλύτερα αποτελέσματα φάνηκε να παρατηρούνται όταν ο PLX5622 χορηγήθηκε δυο με τρεις εβδομάδες πριν τη βλάβη του νωτιαίου μυελού και συνεχιζόμενα μετά από αυτή (Riquier & Sollars, 2020).

Σε άλλη μελέτη παρατηρήθηκε μικρότερου βαθμού παρεμπόδιση της κινητικής ανάρρωσης όταν ο PLX5622 δόθηκε στο ποντίκια τη στιγμή της βλάβης του νωτιαίου μυελού. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όταν ο PLX5622 διεκόπη αμέσως μετά την πρώτη χορήγηση ή τρεις μέρες μετά τη βλάβη, κάτι που δείχνει πως τα μικρογλοιακά κύτταρα είναι σημαντικά την πρώτη εβδομάδα μετά τη βλάβη του νωτιαίου μυελού. Το χρονικό διάστημα σε άλλη μελέτη διαφέρει. Σε αυτή παρατηρήθηκε παρεμπόδιση στην ανάρρωση όταν η μικρογλοία εξαλείφθηκε μεταξύ της 8^{ης} και 28^{ης} ημέρας μετά τη

βλάβη, αλλά όχι όταν το φάρμακο δόθηκε πριν τον τραυματισμό έως και την 7^η μέρα μετά από αυτόν ή όταν δόθηκε αρκετά αργά μετά τον τραυματισμό (ημέρα 29 έως ημέρα 56) (Dagher et al., 2015).

Μετά από τη βλάβη του νωτιαίου μυελού, τα μικρογλοιακά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και συγκεντρώνονται περίξ της περιοχής της βλάβης, σχηματίζοντας ένα κυτταρικό «όριο» μαζί με GFAP+ αστροκύτταρα, με τα οποία έρχονται σε επαφή (Wilhelmsson et al., 2017). Παράλληλα LysM+ κύτταρα από το περιφερικό αίμα αποικίζουν την περιοχή της βλάβης (David et al., 2018). Η εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων με τη χρήση PLX5622 έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή του «ορίου» μικρογλοίας-αστροκυττάρων, με μείωση του πολλαπλασιασμού των αστροκυττάρων και διάχυτη κατανομή μονοκύτταρων-μακροφάγων στον περιβάλλοντα ιστό, κάτι που διαμεσολαβείται από τον IGF-1 (Elmore et al., 2018). Το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζεται επίσης από αυξημένο μέγεθος βλάβης και απώλεια νευρώνων και ολιγοδενδροκυττάρων (Domingues et al., 2016).

Ενώ φαίνεται να υπάρχει ασυμφωνία μεταξύ της αναφερόμενης βελτίωσης μετά από χρήση του αναστολέα CSF1R με το όνομα GW2580 και της επιδείνωσης και αύξησης της ιστικής καταστροφής από τη χρήση του αναστολέα PLX5622, τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να εξηγηθούν από τις διαφορές στη λειτουργία των δύο αναστολέων (στόχευση διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών και αναστολή του πολλαπλασιασμού έναντι της εξάλειψης των μικρογλοιακών κυττάρων), αλλά και από τη χρήση τους σε διαφορετικά πειραματικά μοντέλα ποντικών. Είναι πολύ πιθανό πως η αναστολή του πολλαπλασιασμού των μικρογλοιακών κυττάρων και, πιθανόν των μονοκυττάρων, θα μπορούσε να μειώσει την ένταση μιας ανοσολογικής απάντησης διατηρώντας παράλληλα

την επιθυμητή ανοσολογική λειτουργία. Από την άλλη, η πλήρης εξάλειψη της μικρογλοίας θα εξαφάνιζε όλες τις προστατευτικές της λειτουργίες. Επιπλέον, η χρήση διαφορετικών πειραματικών μοντέλων με διαφορετικού βαθμού φλεγμονώδεις αντιδράσεις ίσως αποτελεί αιτία της διακύμανσης των αποτελεσμάτων (Neal et al., 2020, Olmos-Alonso et al., 2016).

2.4.5 Αλληλεπίδραση με τα αστροκύτταρα

Όπως συζητήθηκε παραπάνω, τα μικρογλοιακά κύτταρα είναι απαραίτητα για το σχηματισμό του «ορίου» μικρογλοίας-αστροκυττάρων περίξ της βλάβης του νωτιαίου μυελού, ελέγχοντας έτσι το μέγεθος της βλάβης αυτής. Πρόσφατες δημοσιεύσεις υποστηρίζουν τη σημασία του «ορίου» μικρογλοίας-αστροκυττάρων στον τραυματισμό στο νευρικό σύστημα. Σε πειραματικό μοντέλο τραυματικής βλάβης του εγκεφάλου, κυτταροκίνες που παρήχθησαν από τη μικρογλοία (TNF, IL-6 και IL-1β) μείωσαν την έκφραση του υποδοχέα P2Y1 στα αστροκύτταρα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ουλώδους ιστού και νευροπροστασία. Αντίθετα, η εξάλειψη ή η απενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων μειώνει την ανταπόκριση των αστροκυττάρων, οδηγώντας σε μείωση του σχηματισμού ουλώδους ιστού και προωθώντας την εκφύλιση του νευρικού ιστού. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο με το αποτέλεσμα άλλης μελέτης, η οποία έδειξε πως η διαταραχή του πολλαπλασιασμού των αστροκυττάρων που σχηματίζουν ουλώδη ιστό έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της αυθόρμητης αναγέννησης των νευραξόνων σε μοντέλο σοβαρής βλάβης του νωτιαίου μυελού (Quintas et al., 2018, Shinozaki et al., 2017).

Παρόλα αυτά, η ενεργοποιημένη μικρογλοία μπορεί να έχει και καταστροφικές λειτουργίες. Πρόσφατες μελέτες περιγράφουν το πώς η ενεργοποιημένη μικρογλοία προκαλεί την ανάπτυξη ενός νευροτοξικού φαινότυπου των αστροκυττάρων, που χαρακτηρίζονται ως A1 αναλογικά με τον M1 προφλεγμονώδη φαινότυπο των μακροφάγων. Τα A1 αστροκύτταρα χάνουν τις φυσιολογικές αστροκυτταρικές λειτουργίες όπως ο σχηματισμός συνάψεων και η φαγοκυτταρική δραστηριότητα και γίνονται εν τέλει νευροτοξικά. Ο A1 φαινότυπος μπορεί να προκληθεί από ένα συνδυασμό IL-1 α , TNF και C1q. Απουσία του καθενός από αυτούς τους παράγοντες οδηγεί σε μείωση της δραστηριότητας του A1 φαινότυπου. In vivo, τα A1 αστροκύτταρα μπορούν να ανιχνευθούν σε μεταθανάτιο νευρικό ιστό του ΚΝΣ ασθενών με νευροεκφυλιστικές ή νευροφλεγμονώδεις ασθένειες (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Multiple Sclerosis). Τα A1 αστροκύτταρα παίζουν επίσης ρόλο στον τραυματισμό του ΚΝΣ. Ακόμη και μικρός αριθμός ενεργοποιημένων μικρογλοιακών κυττάρων είναι αρκετός για να επάγει το φαινότυπο A1 στα αστροκύτταρα (Gray et al., 2020, Orihuela et al., 2016, Quintas et al., 2018, Sarlus & Heneka, 2017).

Είναι σημαντικό να αναφέρουμε πως η αντιμετώπιση των A1 αστροκυττάρων με χορήγηση TGF β ή FGF οδήγησε σε επαναφορά του φαινότυπου από A1 σε μη νευροτοξικό. Αυτό έχει σημασία καθώς η μικρογλοία εκφράζει σε υψηλά επίπεδα TGF β και IGF την 7^η ημέρα μετά τη βλάβη, και έχει δυνητικά την ικανότητα να αναστρέψει τον A1 φαινότυπο των αστροκυττάρων. Είναι επίσης πιθανό πως η εξάλειψη των μικρογλοιακών κυττάρων και η επακόλουθη μείωση των αντιφλεγμονωδών διαμεσολαβητών που αυτά θα παρήγαγαν, να βοηθά στη διατήρηση του A1 φαινότυπου στα αστροκύτταρα. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη για τη διαλεύκανση του

οφέλους και των κινδύνων από την επιρροή της μικρογλοίας στα αστροκύτταρα στα πλαίσια της βλάβης του νωτιαίου μυελού (Liddelow et al., 2017, Liu et al., 2020).

3. Συμπεράσματα

Τα μικρογλοιακά κύτταρα συμμετέχουν σε καθοριστικό βαθμό στη φλεγμονώδη αντίδραση μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού, έχοντας θετικές και αρνητικές επιδράσεις. Η διενέργεια σύγχρονων πειραματικών μελετών και η ανεύρεση νέων ειδικών για τη μικρογλοία δεικτών, οδήγησαν στη συλλογή νέων γνώσεων που αναδεικνύουν τη σημασία των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων μετά τη βλάβη του νωτιαίου μυελού στον έλεγχο της φλεγμονώδους αντίδρασης, την εξέλιξη της βλάβης και το λειτουργικό αποτέλεσμα αυτής. Συμπερασματικά, η καλύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα μικρογλοιακά κύτταρα συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της βλάβης του νωτιαίου μυελού θα οδηγήσει σε βελτιωμένες στρατηγικές προσπάθειας τροποποίησης των κυτταρικών λειτουργιών, με τρόπο που να διατηρούνται οι ευεργετικές επιδράσεις ενώ παράλληλα να μηδενίζονται οι καταστροφικές, στοχεύοντας πάντα τη βέλτιστη ανάρρωση μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού.

Βιβλιογραφία

- Adigun, O. O., Reddy, V., &Varacallo, M. (2020). Anatomy, Back, Spinal Cord. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537004/>
- Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M. R. N., Druschel, C., Curt, A., &Fehlings, M. G. (2017). Traumatic spinal cord injury. *Nature Reviews. Disease Primers*, 3, 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science.
- Ali, S., Mansour, A. G., Huang, W., Queen, N. J., Mo, X., Anderson, J. M., Hassan II, Q. N., Patel, R. S., Wilkins, R. K., Caligiuri, M. A., & Cao, L. (2020). CSF1R inhibitor PLX5622 and environmental enrichment additively improve metabolic outcomes in middle-aged female mice. *Aging (Albany NY)*, 12(3), 2101–2122. <https://doi.org/10.18632/aging.102724>
- Anwar MA, Al Shehabi TS, Eid AH. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury. *Front Cell Neurosci*. 2016 Apr 13;10:98. doi: 10.3389/fncel.2016.00098. PMID: 27147970; PMCID: PMC4829593.
- Ar, B. (1992). Macrophages and inflammatory damage in spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 9 Suppl 1, S83-91.
- Bellver-Landete, V., Bretheau, F., Mailhot, B., Vallières, N., Lessard, M., Janelle, M.-E., Vernoux, N., Tremblay, M.-È., Fuehrmann, T., Shoichet, M. S., & Lacroix, S. (2019). Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. *Nature Communications*, 10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08446-0>
- Bradbury, E. J., & Burnside, E. R. (2019). Moving beyond the glial scar for spinal cord repair. *Nature Communications*, 10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11707-7>
- Caravagna, C., Jaouën, A., Debarbieux, F., &Rougon, G. (2016). Overview of Innovative Mouse Models for Imaging Neuroinflammation. *Current Protocols in Mouse Biology*, 6(2), 131–147. <https://doi.org/10.1002/cpmo.5>

- Carpenter, R. S., Marbourg, J. M., Brennan, F. H., Mifflin, K. A., Hall, J. C. E., Jiang, R. R., Mo, X. M., Karunasiri, M., Burke, M. H., Dorrance, A. M., & Popovich, P. G. (2020). Spinal cord injury causes chronic bone marrow failure. *Nature Communications*, *11*(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17564-z>
- Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annual Review of Immunology*, *35*, 441–468. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358>
- Da Pozzo, E., Tremolanti, C., Costa, B., Giacomelli, C., Milenkovic, V. M., Bader, S., Wetzel, C. H., Rupprecht, R., Taliani, S., Da Settimo, F., & Martini, C. (2019). Microglial Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Phenotypes Are Modulated by Translocator Protein Activation. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184467>
- Dagher, N. N., Najafi, A. R., Kayala, K. M. N., Elmore, M. R. P., White, T. E., Medeiros, R., West, B. L., & Green, K. N. (2015). Colony-stimulating factor 1 receptor inhibition prevents microglial plaque association and improves cognition in 3xTg-AD mice. *Journal of Neuroinflammation*, *12*.
<https://doi.org/10.1186/s12974-015-0366-9>
- David, S., Kroner, A., Greenhalgh, A. D., Zarruk, J. G., & López-Vales, R. (2018). Myeloid cell responses after spinal cord injury. *Journal of Neuroimmunology*, *321*, 97–108.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.06.003>
- de Castro, R., Hughes, M. G., Xu, G.-Y., Clifton, C., Calingasan, N. Y., Gelman, B. B., & McAdoo, D. J. (2004). Evidence that infiltrating neutrophils do not release reactive oxygen species in the site of spinal cord injury. *Experimental Neurology*, *190*(2), 414–424.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.05.046>
- Dinkel, K., Dhabhar, F. S., & Sapolsky, R. M. (2004). Neurotoxic effects of polymorphonuclear granulocytes on hippocampal primary cultures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(1), 331–336. <https://doi.org/10.1073/pnas.0303510101>
- Domingues, H. S., Portugal, C. C., Socodato, R., & Relvas, J. B. (2016). Oligodendrocyte, Astrocyte, and Microglia Crosstalk in Myelin Development, Damage, and Repair. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00071>

- Du, C., Yang, D., Zhang, P., & Jiang, B. (2007). Single neural progenitor cells derived from EGFP expressing mice is useful after spinal cord injury in mice. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology*, 35(4), 405–414. <https://doi.org/10.1080/10731190701460275>
- Elmore, M. R. P., Hohsfield, L. A., Kramár, E. A., Soreq, L., Lee, R. J., Pham, S. T., Najafi, A. R., Spangenberg, E. E., Wood, M. A., West, B. L., & Green, K. N. (2018). Replacement of microglia in the aged brain reverses cognitive, synaptic, and neuronal deficits in mice. *Aging Cell*, 17(6). <https://doi.org/10.1111/accel.12832>
- Esposito, E., & Cuzzocrea, S. (2011). Anti-TNF therapy in the injured spinal cord. *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.11.009>
- Fernandez-Zafra, T., Gao, T., Jurczak, A., Sandor, K., Hore, Z., Agalave, N. M., Su, J., Estelius, J., Lampa, J., Hokfelt, T., Wiesenfeld-Hallin, Z., Xu, X., Denk, F., & Svensson, C. I. (2019). Exploring the transcriptome of resident spinal microglia after collagen antibody–induced arthritis. *PAIN*, 160(1), 224–236. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001394>
- Forehand, C. J., & Farel, P. B. (1982). Spinal cord development in anuran larvae: I. Primary and secondary neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 209(4), 386–394. <https://doi.org/10.1002/cne.902090408>
- Franco, R., & Fernández-Suárez, D. (2015). Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system. *Progress in Neurobiology*, 131, 65–86. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.05.003>
- Gensel, J. C., & Zhang, B. (2015). Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. *Brain Research*, 1619, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.045>
- Gerber, Y. N., Saint-Martin, G. P., Bringuier, C. M., Bartolami, S., Goze-Bac, C., Noristani, H. N., & Perrin, F. E. (2018). CSF1R Inhibition Reduces Microglia Proliferation, Promotes Tissue Preservation and Improves Motor Recovery After Spinal Cord Injury. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00368>
- Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., Mehler, M. F., Conway, S. J., Ng, L. G., Stanley, E. R., Samokhvalov, I. M., & Merad, M. (2010). Fate mapping analysis reveals that

- adult microglia derive from primitive macrophages. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6005), 841–845. <https://doi.org/10.1126/science.1194637>
- Ginhoux, F., & Prinz, M. (2015). Origin of microglia: Current concepts and past controversies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(8), a020537. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020537>
- Gray, S., Kinghorn, K., & Woodling, N. (2020). Shifting equilibriums in Alzheimer's disease: The complex roles of microglia in neuroinflammation, neuronal survival and neurogenesis. *Neural Regeneration Research*, 15(7), 1208. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.272571>
- Hamamoto, Y., Ogata, T., Morino, T., Hino, M., & Yamamoto, H. (2010). Prostaglandin E1 analog increases spinal cord blood flow at the point of compression during and after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*, 48(2), 149–153. <https://doi.org/10.1038/sc.2009.99>
- Hammond, T. R., Robinton, D., & Stevens, B. (2018). Microglia and the Brain: Complementary Partners in Development and Disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 34, 523–544. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060509>
- Harrow-Mortelliti, M., Reddy, V., & Jimsheleishvili, G. (2020). Physiology, Spinal Cord. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544267/>
- Je, W., Tk, R., Rk, N., Dr, E., H, Z., S, R., & Vw, Y. (2003). An adverse role for matrix metalloproteinase 12 after spinal cord injury in mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(31), 10107–10115. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-31-10107.2003>
- Jurga, A. M., Paleczna, M., & Kuter, K. Z. (2020). Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 198. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00198>
- Kabba, J. A., Xu, Y., Christian, H., Ruan, W., Chenai, K., Xiang, Y., Zhang, L., Saavedra, J. M., & Pang, T. (2018). Microglia: Housekeeper of the Central Nervous System. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 38(1), 53–71. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0504-2>
- Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., & Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. *Physiological Reviews*, 91(2), 461–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>

- Kigerl, K. A., de Rivero Vaccari, J. P., Dietrich, W. D., Popovich, P. G., & Keane, R. W. (2014). Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Experimental Neurology*, *258*, 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.01.001>
- Kolos, E. A., & Korzhevskii, D. E. (2020). Spinal Cord Microglia in Health and Disease. *Acta Naturae*, *12*(1), 4–17. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.10934>
- Liddelow, S. A., Guttenplan, K. A., Clarke, L. E., Bennett, F. C., Bohlen, C. J., Schirmer, L., Bennett, M. L., Münch, A. E., Chung, W.-S., Peterson, T. C., Wilton, D. K., Frouin, A., Napier, B. A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M. S., Rowitch, D. H., Dawson, V. L., Dawson, T. M., ... Barres, B. A. (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, *541*(7638), 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
- Liu, L., Liu, J., Bao, J., Bai, Q., & Wang, G. (2020). Interaction of Microglia and Astrocytes in the Neurovascular Unit. *Frontiers in Immunology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01024>
- Lytle, J. M., Chittajallu, R., Wrathall, J. R., & Gallo, V. (2009). NG2 cell response in the CNP-EGFP mouse after contusive spinal cord injury. *Glia*, *57*(3), 270–285. <https://doi.org/10.1002/glia.20755>
- Mawhinney, L. A., Thawer, S. G., Lu, W.-Y., Rooijen, N. van, Weaver, L. C., Brown, A., & Dekaban, G. A. (2012). Differential Detection and Distribution of Microglial and Hematogenous Macrophage Populations in the Injured Spinal Cord of lys-EGFP-ki Transgenic Mice. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *71*(3), 180–197. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3182479b41>
- Mukhamedshina, Y. O., Akhmetzyanova, E. R., Martynova, E. V., Khaiboullina, S. F., Galieva, L. R., & Rizvanov, A. A. (2017). Systemic and Local Cytokine Profile following Spinal Cord Injury in Rats: A Multiplex Analysis. *Frontiers in Neurology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00581>
- Neal, M. L., Fleming, S. M., Budge, K. M., Boyle, A. M., Kim, C., Alam, G., Beier, E. E., Wu, L.-J., & Richardson, J. R. (2020). Pharmacological inhibition of CSF1R by GW2580 reduces microglial proliferation and is protective against neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration. *The FASEB Journal*, *34*(1), 1679–1694. <https://doi.org/10.1096/fj.201900567RR>

- Neirinckx, V., Coste, C., Franzen, R., Gothot, A., Rogister, B., & Wislet, S. (2014). Neutrophil contribution to spinal cord injury and repair. *Journal of Neuroinflammation*, *11*.
<https://doi.org/10.1186/s12974-014-0150-2>
- Nguyen, H. X., O'Barr, T. J., & Anderson, A. J. (2007). Polymorphonuclear leukocytes promote neurotoxicity through release of matrix metalloproteinases, reactive oxygen species, and TNF- α . *Journal of Neurochemistry*, *102*(3), 900–912. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04643.x>
- Noble, L. J., Donovan, F., Igarashi, T., Goussev, S., & Werb, Z. (2002). Matrix Metalloproteinases Limit Functional Recovery after Spinal Cord Injury by Modulation of Early Vascular Events. *The Journal of Neuroscience*, *22*(17), 7526–7535. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-17-07526.2002>
- Olmos-Alonso, A., Schettters, S. T. T., Sri, S., Askew, K., Mancuso, R., Vargas-Caballero, M., Holscher, C., Perry, V. H., & Gomez-Nicola, D. (2016). Pharmacological targeting of CSF1R inhibits microglial proliferation and prevents the progression of Alzheimer's-like pathology. *Brain*, *139*(3), 891–907. <https://doi.org/10.1093/brain/awv379>
- Orihuela, R., McPherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). Microglial M1/M2 polarization and metabolic states: Microglia bioenergetics with acute polarization. *British Journal of Pharmacology*, *173*(4), 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>
- Peng, J., Gu, N., Zhou, L., Eyo, U. B., Murugan, M., Gan, W.-B., & Wu, L.-J. (2016). Microglia and monocytes synergistically promote the transition from acute to chronic pain after nerve injury. *Nature Communications*, *7*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms12029>
- Pixley, F. J., & Stanley, E. R. (2004). CSF-1 regulation of the wandering macrophage: Complexity in action. *Trends in Cell Biology*, *14*(11), 628–638. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.09.016>
- Quintas, C., Vale, N., Gonçalves, J., & Queiroz, G. (2018). Microglia P2Y₁₃ Receptors Prevent Astrocyte Proliferation Mediated by P2Y₁ Receptors. *Frontiers in Pharmacology*, *9*.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00418>

- Riquier, A. J., & Sollars, S. I. (2020). Astrocytic response to neural injury is larger during development than in adulthood and is not predicated upon the presence of microglia. *Brain, Behavior, & Immunity - Health, 1*, 100010. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2019.100010>
- Sarlus, H., & Heneka, M. T. (n.d.). Microglia in Alzheimer's disease. *The Journal of Clinical Investigation, 127*(9), 3240–3249. <https://doi.org/10.1172/JCI90606>
- Schulz, C., Gomez Perdiguero, E., Chorro, L., Szabo-Rogers, H., Cagnard, N., Kierdorf, K., Prinz, M., Wu, B., Jacobsen, S. E. W., Pollard, J. W., Frampton, J., Liu, K. J., & Geissmann, F. (2012). A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science (New York, N.Y.), 336*(6077), 86–90. <https://doi.org/10.1126/science.1219179>
- Shinozaki, Y., Shibata, K., Yoshida, K., Shigetomi, E., Gachet, C., Ikenaka, K., Tanaka, K. F., & Koizumi, S. (2017). Transformation of Astrocytes to a Neuroprotective Phenotype by Microglia via P2Y1 Receptor Downregulation. *Cell Reports, 19*(6), 1151–1164. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.047>
- Spangenberg, E., Severson, P. L., Hohsfield, L. A., Crapser, J., Zhang, J., Burton, E. A., Zhang, Y., Spevak, W., Lin, J., Phan, N. Y., Habets, G., Rymar, A., Tsang, G., Walters, J., Nespi, M., Singh, P., Broome, S., Ibrahim, P., Zhang, C., ... Green, K. N. (2019). Sustained microglial depletion with CSF1R inhibitor impairs parenchymal plaque development in an Alzheimer's disease model. *Nature Communications, 10*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11674-z>
- Stirling, D. P., & Yong, V. W. (2008). Dynamics of the inflammatory response after murine spinal cord injury revealed by flow cytometry. *Journal of Neuroscience Research, 86*(9), 1944–1958. <https://doi.org/10.1002/jnr.21659>
- Thompson, C. D., Zurko, J. C., Hanna, B. F., Hellenbrand, D. J., & Hanna, A. (2013). The therapeutic role of interleukin-10 after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma, 30*(15), 1311–1324. <https://doi.org/10.1089/neu.2012.2651>
- Tong, J., Ren, Y., Wang, X., Dimopoulos, V. G., Kesler, H. N., Liu, W., He, X., Nedergaard, M., & Huang, J. H. (2014). Assessment of NgR1 Function In Vivo After Spinal Cord Injury. *Neurosurgery, 75*(1), 51–60. <https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000000337>

- Tozaki-Saitoh, H., Tsuda, M., Miyata, H., Ueda, K., Kohsaka, S., & Inoue, K. (2008). P2Y₁₂ Receptors in Spinal Microglia Are Required for Neuropathic Pain after Peripheral Nerve Injury. *Journal of Neuroscience*, 28(19), 4949–4956. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0323-08.2008>
- van Wageningen, T. A., Vlaar, E., Kooij, G., Jongenelen, C. A. M., Geurts, J. J. G., & van Dam, A.-M. (2019). Regulation of microglial TMEM119 and P2RY₁₂ immunoreactivity in multiple sclerosis white and grey matter lesions is dependent on their inflammatory environment. *Acta Neuropathologica Communications*, 7(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0850-z>
- Vidal, P. M., Lemmens, E., Geboes, L., Vanganswinkel, T., Nelissen, S., & Hendrix, S. (2013). Late blocking of peripheral TNF- α is ineffective after spinal cord injury in mice. *Immunobiology*, 218(2), 281–284. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.05.007>
- Waisman, A., Liblau, R. S., & Becher, B. (2015). Innate and adaptive immune responses in the CNS. *The Lancet. Neurology*, 14(9), 945–955. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00141-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00141-6)
- Wang, L., Yu, W., Tao, L., & Xu, Q. (2016). Myeloid-derived suppressor cells mediate immune suppression in spinal cord injury. *Journal of Neuroimmunology*, 290, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.11.023>
- Wieghofer, P., & Prinz, M. (2016). Genetic manipulation of microglia during brain development and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1862(3), 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.09.019>
- Wilhelmsson, U., Andersson, D., de Pablo, Y., Pekny, R., Ståhlberg, A., Mulder, J., Mitsios, N., Hortobágyi, T., Pekny, M., & Pekna, M. (2017). Injury Leads to the Appearance of Cells with Characteristics of Both Microglia and Astrocytes in Mouse and Human Brain. *Cerebral Cortex*, 27(6), 3360–3377. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx069>
- Witiw, C. D., & Fehlings, M. G. (2015). Acute Spinal Cord Injury. *Journal of Spinal Disorders & Techniques*, 28(6), 202–210. <https://doi.org/10.1097/BSD.0000000000000287>
- Wolf, S. A., Boddeke, H. W. G. M., & Kettenmann, H. (2017). Microglia in Physiology and Disease. *Annual Review of Physiology*, 79, 619–643. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034406>

- Yu, L., Su, X., Li, S., Zhao, F., Mu, D., & Qu, Y. (2020). Microglia and Their Promising Role in Ischemic Brain Injuries: An Update. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 14*.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00211>
- Yune, T. Y., Chang, M. J., Kim, S. J., Lee, Y. B., Shin, S. W., Rhim, H., Kim, Y. C., Shin, M. L., Oh, Y. J., Han, C. T., Markelonis, G. J., & Oh, T. H. (2003). Increased production of tumor necrosis factor- α induces apoptosis after traumatic spinal cord injury in rats. *Journal of Neurotrauma, 20*(2), 207–219. <https://doi.org/10.1089/08977150360547116>
- Zhang, L., Zhang, J., & You, Z. (2018). Switching of the Microglial Activation Phenotype Is a Possible Treatment for Depression Disorder. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 12*.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00306>
- Zhang, N., Yin, Y., Xu, S.-J., Wu, Y.-P., & Chen, W.-S. (2012). Inflammation & apoptosis in spinal cord injury. *The Indian Journal of Medical Research, 135*(3), 287–296.
- Zhao, P., Waxman, S. G., & Hains, B. C. (2007). Extracellular Signal-Regulated Kinase-Regulated Microglia–Neuron Signaling by Prostaglandin E₂ Contributes to Pain after Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience, 27*(9), 2357–2368. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0138-07.2007>
- Zhou, X., He, X., & Ren, Y. (2014). Function of microglia and macrophages in secondary damage after spinal cord injury. *Neural Regeneration Research, 9*(20), 1787–1795.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.143423>
- Zhou, Y., Li, N., Zhu, L., Lin, Y., & Cheng, H. (2018). The microglial activation profile and associated factors after experimental spinal cord injury in rats. *Neuropsychiatric Disease and Treatment, 14*, 2401–2413. <https://doi.org/10.2147/NDT.S169940>