



INMUNIZACIÓN CON PÉPTIDOS NEURALES MODIFICADOS COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA EN LESIÓN DE MÉDULA ESPINAL

ANDREA IBARRA GARCÍA¹, RAÚL SILVA GARCÍA², ANTONIO IBARRA¹

¹Universidad Anáhuac México, Campus Norte, Centro de Investigación en Ciencias de la Salud (CICSA), Facultad de Ciencias de la Salud, Huixquilucan, Estado de México, México.
jose.ibarra@anahuac.mx; andrea_ibarra@anahuac.mx

²Hospital de Pediatría, CMN-SXXI, Unidad de investigación Médica en Inmunología, IMSS, Ciudad de México, México.
silgarrul@yahoo.com.mx

Resumen

Después de una lesión de medula espinal (LME) se generan una cadena de eventos bioquímicos e inmunológicos destructivos que incrementan el daño a los tejidos. Por lo anterior, actualmente se estudian una variedad de terapias para disminuir este daño. Algunos estudios indican que se podría proteger el tejido neural al inducir una respuesta inmune adaptativa en contra de los constituyentes neurales. Estudios previos han sugerido que la inmunización con péptidos neurales modificados (INDP, del inglés Immunization with Neural-Derived Peptides) reduce la muerte de las neuronas y promueve una recuperación significativa del movimiento. Al combinar esta estrategia con otros tratamientos (sustancias antioxidantes o péptidos modulares del sistema inmune) después de una LME se puede mejorar la respuesta protectora inducida por la INDP. En LME aguda (muy reciente) la INPD ha mostrado resultados prometedores, sin embargo, se deben hacer más estudios para generar una propuesta más favorable.

Palabras clave: A91; inmunización; paraplejía; autorreactividad protectora.

Introducción

La lesión de médula espinal (LME) es uno de los problemas más devastadores en el ser humano. La incidencia de esta patología por cada millón de habitantes es la siguiente: a nivel mundial de 40-80, en los Estados Unidos 25 a 59 de casos por año presentando un promedio de 40 [1,2], mientras que en México en el 2020 se reportó más de 6 millones de habitantes con alguna discapacidad, de los cuales el 48% sufría de discapacidad motriz sin especificar la causa [3].

Las principales causas incluyen accidentes de tráfico (38%), caídas (31%) y deportes (10-17%) [4]. El deterioro neurológico permanente de las funciones del sistema nervioso central (SNC) es el resultado al daño provocado a la médula espinal. El deterioro final depende del daño del tejido, el cual a su vez depende de la intensidad del primer mecanismo de lesión y de los eventos secundarios desarrollados después de la misma [5]. Las estrategias que se llevan a cabo para neutralizar los fenómenos secundarios sirven para reducir el daño y favorecen una recuperación neurológica. Investigaciones recientes han demostrado que



la modulación del sistema inmune (sistema de defensa de nuestro cuerpo contra patógenos) podría promover la protección al tejido neural o, incluso, la restauración del mismo [6,7]. Esta estrategia terapéutica se logró mediante la inmunización con péptidos neurales modificados (INDP, del inglés immunization with neural derived peptides). Para comprender los conceptos básicos de esta terapia, primeramente, describiremos la fisiopatología de la LME y la participación de las células inmunitarias después de una lesión. Posteriormente, se explicará cómo la INDP regula el sistema inmunológico y promueve la protección del tejido. Finalmente, esta revisión examinará los efectos positivos de INDP y su asociación con otras estrategias neuroprotectoras después de una LME.

Fisiopatología después de LME

Después de una LME los mecanismos de lesión primaria y secundaria contribuyen a provocar el daño al tejido. La lesión primaria es causada por el mecanismo de daño inicial al tejido nervioso, que puede ser originado por una presión, un golpe o un movimiento brusco de la columna vertebral que llegue incluso a seccionar la médula espinal. Este evento activa varios mecanismos destructivos que aumentan el daño tisular (lesión secundaria).

Algunos de los mecanismos secundarios de la lesión son la disminución en la presión sanguínea y frecuencia cardíaca (*shock* neurogénico), interrupción de la irrigación sanguínea (isquemia), daño a las membranas de las células, incremento intracelular de sustancias tóxicas, falla en la función de la célula y muerte celular. La inflamación es uno de los problemas más importantes que también contribuyen a incrementar el daño al tejido neural. Todos estos, y otros fenómenos, contribuyen en gran medida a la extensión del daño al tejido nervioso circundante [8-10].

El *shock* neurogénico puede agravar o destruir el tejido nervioso. Por ejemplo, la isquemia, la principal consecuencia del *shock* neurogénico, interrumpe importantes procesos vitales para las células, lo que conduce a la pérdida de energía y la activación de mecanismos de muerte celular. Al mismo tiempo, la isquemia promueve la activación de enzimas (proteínas que degradan moléculas) que destruyen las membranas de la célula, así como los componentes internos de la misma [9,11].

Después de la isquemia, la reperfusión (entrada de sangre nuevamente al tejido neural) incrementa el daño por el aumento en la producción de radicales libres (moléculas reactivas que atacan las células), principalmente especies reactivas derivadas del oxígeno (Reactive Oxygen Species, ROS, por sus siglas en inglés) [10,12]. Las ROS pueden atacar los ácidos grasos (moléculas que conforman las membranas de las células), provocando una reacción destructiva en cadena en la membrana celular y generando más radicales libres; este proceso se llama lipoperoxidación (LP) [9, 13].

La toxicidad, otro proceso dañino, depende de la liberación y acumulación de mensajeros químicos (neurotransmisores) excitadores (p. ej., glutamato), que causan daño directo o indirecto al tejido de la médula espinal [14,15]. Esto puede deberse a la activación de algunos receptores como el de N-metil-D-aspartato (NMDA) o a un aumento de la concentración de calcio (elemento químico que en concentraciones muy altas causa daño) en la célula [18,16].

La apoptosis (tipo de muerte celular) es otro fenómeno peligroso que se desarrolla después de una LME. Las citocinas (proteínas liberadas por el sistema de defensa de nuestro cuerpo), los radicales libres y otras moléculas pueden inducir la apoptosis y provocar mayor daño al tejido y con ello una mayor alteración



de las funciones neurológicas (movimiento, sensibilidad, etc.) [9,17].

Finalmente, la respuesta inmune celular inflamatoria (respuesta del sistema de defensa de nuestro cuerpo) también contribuye a la lesión de la médula espinal. Las células del sistema inmune pueden producir ROS y así contribuir a la generación de LP. Una hora después de la lesión, los neutrófilos (células del sistema inmune) llegan a la zona [18,19], su número aumenta y alcanzan un máximo a las 24 horas posterior a la lesión [19,20]. Los macrófagos periféricos –otro tipo de célula del sistema inmune– están presentes 24 horas después de la LME y su número máximo aumenta entre los días cuatro y siete [20,21]. Estas células pueden persistir en el área lesionada incluso en la fase crónica [22]. Por otro lado, otras células del sistema inmune, como la microglía (macrófagos residentes del SNC), se activan en el sitio de la lesión entre los días 3 y 7 después de la misma [23]. La presencia de todas estas células en el sitio de la lesión se correlaciona fuertemente con la extensión del daño [20,24]. Estudios previos han demostrado que esta respuesta celular está regulada por una respuesta autoinmune o autoreactiva (respuesta del sistema inmune contra constituyentes propios) contra proteínas del SNC, especialmente la proteína básica de la mielina (MBP, del inglés: myelin basic protein), una de las proteínas que mayor respuesta inmune puede generar en su contra y la más abundante en el SNC [25-27]. Esta respuesta autorreactiva está dominada por linfocitos T cooperadores (células que controlan la respuesta del sistema inmune) denominados Th1 que son altamente proinflamatorios. Estas células descontroladas liberan citocinas proinflamatorias que aumentan las respuestas inmunes inflamatoria e incrementan el daño al tejido. Según datos previos, el control de esta respuesta proinflamatoria puede contribuir a la protección del

tejido e incluso a la formación de nuevas neuronas (neurogénesis) [28-31]. Por lo tanto, el papel de las células inmunitarias después de la LME podría ser crucial en el desarrollo de una estrategia terapéutica.

Participación de las células del sistema inmune después de la LME

Varios estudios han demostrado que las células del sistema inmune pueden incrementar (si están fuera de control) o disminuir (si son controladas) el daño tisular [27,30,32,33]. Este efecto bidireccional depende de la eventual activación de las células de la microglía. Cuando la microglía interactúa con las moléculas liberadas después de la lesión (lípidos, proteínas, enzimas, etc.), adquieren características de células que destruyen más el tejido, son células llamadas M1 o con un fenotipo M1 [34-37]. Estas células se caracterizan por liberar altos niveles de radicales libres y sustancias que incrementan la inflamación como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la ciclooxigenasa 2 (COX2) [34,38-40]. Estas moléculas aumentan la respuesta inmune inflamatoria, provocando una mayor producción de radicales libres y enzimas que atacan proteínas, lo que contribuye a una mayor destrucción de tejidos [37,41,42]. En estas condiciones, la microglía no es capaz de interactuar con el sistema inmunitario adaptativo (el que activa a los linfocitos T); una condición importante para inducir la protección del tejido [38,43]. Además, los linfocitos T se reclutan en cantidades bajas y muy tarde; por lo tanto, en lugar de controlar la respuesta inmunitaria, los linfocitos T colaboran para incrementar la respuesta inmune inflamatoria al liberar más citocinas proinflamatorias [44].

Por otro lado, si la microglía interactúa primero con la inmunidad adaptativa (linfocitos T) y no con los productos derivados del daño al tejido, se activará bajo características de células que

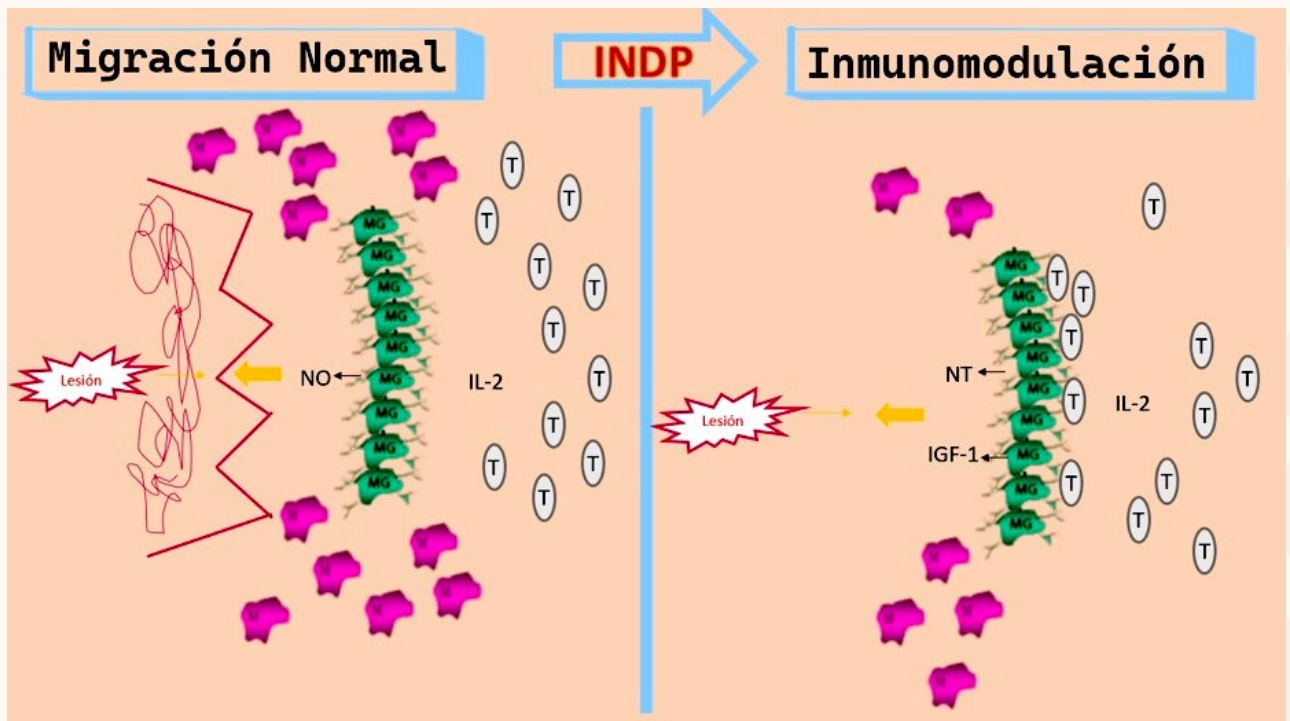


protegen el tejido llamadas M2 o fenotipo M2. Adquieren las propiedades para interactuar con los linfocitos T y liberan moléculas restauradoras y protectoras como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, del inglés brain derived neurotrophic factor), la neurotrofina-3 (NT-3), el factor de crecimiento nervioso (NGF, del inglés nerve growth factor) y además son capaces de eliminar compuestos tóxicos para el tejido [45]. En este sentido, un estudio muy interesante demostró que los linfocitos T, especialmente aquellos que son autorreactivos pueden incrementar la capacidad de la microglía para eliminar las sustancias tóxicas sin producir ROS. Este efecto mediado por linfocitos T no se puede lograr si la activación de la microglía es inducida por restos de tejido dañado [46,47]. Por lo tanto, los efectos benéficos o perjudiciales de la respuesta del sistema inmune dependen de la forma en que se active la microglía (con características M1 o M2) y esto depende en gran parte, de la llegada oportuna de los linfocitos T al sitio de lesión.

Esto último da la posibilidad a la microglía de interactuar oportunamente con los linfocitos T para activarse con características protectoras (M2) y hacer que los linfocitos T controlen la respuesta del sistema inmune promoviendo con esto un microambiente antiinflamatorio que protegerá el tejido contra la inflamación y promoverá la restauración del mismo.

Modulación de la respuesta autorreactiva por la inmunización con péptidos neurales modificados (INDP)

Es concebible que después de la LME, los efectos dañinos de las células inmunitarias puedan revertirse y modificarse para conferir efectos benéficos. Para lograr este objetivo, es fundamental suprimir o atenuar la activación de la microglía en un fenotipo M1. Con este fin, una estrategia terapéutica debe promover una llegada más temprana y abundante de células T al sitio de la lesión. Esta estrategia induce la activación de la microglía en función de un fenotipo protector [38]. Una forma sencilla de





hacerlo es inmunizar (introducir una proteína para activar una respuesta del sistema inmune contra ella) con los mismos constituyentes que se liberan después de una lesión y que desencadenan la respuesta autorreactiva: una proteína del SNC. Gracias a esta estrategia de inmunización con proteínas del SNC, un gran número de células de la microglia adquieren un fenotipo protector (M2) y luego liberan moléculas que, en lugar de aumentar la lesión, contribuyen a la protección y restauración del tejido [45-47].

Esta estrategia, ahora llamada autorreactividad protectora, consiste en modular la respuesta inmunitaria mejorando las respuestas autorreactivas de protección y restauración. En estudios preliminares, la activación de linfocitos autorreactivos específicos contra proteínas de la mielina se incrementó mediante la inmunización con MBP. Esta estrategia terapéutica contribuyó a una mejor protección del tejido y mejor recuperación de los movimientos después de una LME reciente [48]. Investigaciones posteriores han demostrado que la "autorreactividad protectora" es esencialmente una respuesta mediada por linfocitos T determinada genéticamente y se activa como una respuesta fisiológica a la lesión del SNC [49,50].

Los resultados prometedores de esta inmunización terapéutica han impulsado la planeación de más estudios para prevenir el riesgo de enfermedades autoinmunes. Dado que la inmunización con componentes propios puede conducir al desarrollo de una enfermedad autoinmune (enfermedad en que el sistema inmune ataca nuestros tejidos), no se recomienda usar esta estrategia en seres humanos. Por lo anterior, se han buscado alternativas que provoquen el mismo efecto benéfico, pero sin causar una enfermedad autoinmunitaria.

Modulación de la autorreactividad protectora sin riesgo de enfermedad autoinmune

La posibilidad de provocar una enfermedad autoinmune después de la inmunización con MBP es la principal complicación de esta terapia; sin embargo, puede eliminarse mediante la inmunización con un péptido propio débil como lo puede ser un ligando peptídico alterado (altered peptide ligand, APL, por sus siglas en inglés). Los APL son péptidos análogos a los sitios más inductores de respuesta inmune en una proteína. Se les realiza una o más sustituciones de aminoácidos en los sitios necesarios para el contacto con el receptor de linfocitos T (TCR), lo que les permite competir por la unión de TCR y activar al linfocito. Los APL cambian la señal de activación del linfocito T haciendo que éste se active de una forma diferente [51].

En estudios previos se probaron varios APL derivados de MBP [G91, A96 y A91 (donde la letra indica el cambio y el número indica la posición del aminoácido dentro de la secuencia de la MBP) en modelos animales de LME. Se observó que la inmunización con G91 o A96 induce una protección significativa y, por lo tanto, reduce el grado de parálisis en animales con LME reciente. Cabe señalar que los animales inmunizados no mostraron signos clínicos de alguna enfermedad autoinmune. A pesar de estos resultados, no hay más informes de estudios que den seguimiento a la estrategia de tratamiento con estos dos APL [52].

Otro APL es el A91, ha sido ampliamente probado. Este es un péptido derivado de MBP (secuencia 87-99) al que se le reemplazó el aminoácido lisina en la posición 91 por alanina. La inmunización con este péptido indujo la activación del linfocito T en un fenotipo Th2 (antiinflamatorio-protector y restaurador) que puede modular la respuesta Th1 observada en la LME [53-55].



Uso de la INDP después de LME

La INDP con el péptido A91 mejora la movilidad motora y la supervivencia neuronal en animales con LME [54,55]. Se ha mostrado que la inyección de células dendríticas derivadas de la médula ósea que han sido puestas en contacto con el péptido A91 induce una mejora significativa en la recuperación motora con efecto morfológicamente visible después de la LME [56]. Otros estudios usando la INDP con el péptido A91 han dejado ver los posibles mecanismos de acción de esta estrategia para mejorar la movilidad. Por ejemplo, la INDP es capaz de inhibir la LP que daña las membranas celulares y puede reducir la muerte celular programada (apoptosis) [30,31]. Es probable que estos efectos protectores se deban a la inhibición de la producción de óxido nítrico (un radical libre muy potente) y la inducción de la expresión de los genes del óxido nítrico sintasa (enzima que colabora en la producción de óxido nítrico) [57]. Además, la INDP con A91, también promueve la producción sostenida de BDNF y NT-3 y crea un entorno antiinflamatorio durante la fase aguda de la lesión, microambiente propicio para la protección y restauración del tejido neural [58,59].

Por otro lado, para mejorar los efectos benéficos de la INDP, un estudio reciente investigó la administración duplicada de la INDP. El estudio también analizó el posible desarrollo de enfermedad autoinmune. Los resultados mostraron que ni las dosis simples o dobles de la INDP dieron como resultado el desarrollo de una enfermedad autoinmune [55]. Sin embargo, la doble administración no incrementó el efecto sobre la movilidad, incluso lo inhibió. Los datos presentados arrojan luz importante sobre el uso de APL como estrategia terapéutica para inducir protección sin riesgo de enfermedad autoinmune. Los efectos positivos de la INDP con A91 se observaron consistentemente en modelos de LME aguda; sin embargo,

estudios recientes también han demostrado que puede ser útil en las etapas crónicas de la lesión. En este caso, se observó una inducción de neurogénesis y restauración de las fibras neurales después de la INDP durante la fase crónica de la LME [7,60].

Según estas observaciones, la inmunización con A91 parece ser una terapia prometedora para la LME aguda. Por lo tanto, se necesita más investigación para perfeccionar la estrategia. En este sentido, se investigó la eficacia de combinar esta terapia con metilprednisolona (MP), el único agente terapéutico disponible en la actualidad para la LME. Los estudios al respecto demostraron que la terapia de INDP+ MP puede llevarse a cabo sin problema en los pacientes con LME aguda [54]. La INDP parece ser una estrategia prometedora que se puede adaptar para el tratamiento de LME en humanos, incluso usando MP.

Hasta la fecha, los resultados en esta área han sido consistentes y reproducibles, especialmente en modelos animales de LME con lesión moderada. Sin embargo, la INDP con A91 no fue eficaz en modelos de LME con lesión severa [61]. Futuras investigaciones deberán concentrarse en optimizar el manejo de esta estrategia en LME.

Asociación del efecto de la INDP y otras estrategias neuroprotectoras

Si bien los efectos benéficos de la INDP han arrojado resultados alentadores, las mejoras a esta estrategia podrían generar resultados más eficaces para las personas afectadas por LME. Los principales efectos dañinos de los diferentes mecanismos de lesión ocurren durante la fase aguda de la misma [10]. La respuesta autorreactiva protectora que origina la INDP se desarrolla después de 6 a 12 días posteriores a la lesión, esto quiere decir que el tejido neural queda sin protección durante la fase aguda,



específicamente en los primeros días después del daño. Por lo tanto, la combinación de la INDP con otra estrategia que proteja el tejido durante este periodo podría mejorar el resultado final de la terapia. La LP es uno de los fenómenos más destructivos que se desarrolla inmediatamente después de una LME [30]; por lo tanto, la suplementación con antioxidantes (agentes que neutralizan los radicales libres y con ello inhiben la LP) puede conferir un mejor efecto protector. El glutatión monoetil éster (GSH-MEE) es un derivado del glutatión (GSH) que es permeable a las células, es un antioxidante que protege contra los radicales libres [62,63]. Además, el GSH favorece la actividad del sistema inmune [64]. Por lo tanto, administrar GSH-MEE en combinación con INDP podría mejorar significativamente la protección del tejido. Los estudios sobre este tema han demostrado que el uso de esta estrategia combinada da como resultado una mejor recuperación del movimiento en comparación con el tratamiento solo con la INDP. Esta mejoría neurológica se correlacionó significativamente con una mejor protección al tejido neural [55].

En un estudio reciente, la INDP también se combinó con la implantación de una matriz biocompatible impregnada con células madre mesénquimales (MSC) de la médula ósea, esta implantación se llevó a cabo en el sitio de la lesión. Esta estrategia combinada mejoró la protección del tejido y promovió una recuperación de la movilidad que fue mejor a la observada con la sola administración de la INDP [65]. Otra estrategia que también ha dado resultados interesantes es la combinación de INDP + GSH-MEE + el factor inhibidor de la migración de monocitos (FILM), estos últimos son dos péptidos que regulan la inflamación. Esta terapia combinada dio como resultado una mejor recuperación del movimiento y una mejor protección del tejido neural en comparación con la administración de solo la INDP [66].

Según los datos actuales, la INDP sola o en combinación con otras estrategias neuroprotectoras es una estrategia prometedora; sin embargo, se necesitan más estudios para establecer la efectividad de esta terapia.

Conclusiones

Diferentes estudios han proporcionado información valiosa sobre la capacidad de las células del sistema inmune para proteger y reparar el tejido neural. En este contexto, la INDP se considera un enfoque prometedor para la terapia de la LME. Se ha demostrado que los péptidos neurales modificados son eficaces para estimular los efectos protectores de la respuesta autorreactiva protectora, sin riesgo de enfermedad autoinmune. Por otro lado, la ventana de tratamiento después de LME puede incluir el uso de INDP y MP al mismo tiempo. Finalmente, la adición de otras estrategias protectoras del tejido puede potenciar el efecto protector inducido por INDP. El uso de la INDP en LME aguda es una estrategia prometedora; por lo tanto, se recomiendan más estudios experimentales e incluso el inicio de estudios preclínicos para desarrollar la mejor estrategia.

Abreviaturas

APL: ligando peptídico alterado
SNC: sistema nervioso central
EAE: encefalomiелitis autoinmune experimental
GSH-MEE: Glutation monoetil ester
IFN- α : interferón-gamma
INDP: Inmunización con péptidos neurales modificados
IL-4: interleucina-4
LP: Lipoperoxidación
MBP: proteína básica de mielina
MP: metilprednisolona
ROS: especies reactivas de oxígeno
SCI: lesión de la médula espinal
TCR: receptor de células T
Th: T cooperadora



Referencias

- 1 Devivo MJ. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications. *Spinal Cord* 2012; 50: 365-372.
- 2 Yuying Chen, MD National Spinal Cord Injury Model Systems Database. National Spinal Cord Injury Statistical Center. 1970. <https://www.nscisc.uab.edu/> (consultado el 11 de 2022).
- 3 Censo de Población y Vivienda 2020. Información de México, Discapacidad. INEGI. 2020. <https://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/discapacidad.aspx> (consultado el 28 de noviembre de 2022).
- 4 Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, Kotter MRN, Druschel C, Curt A et al. Traumatic spinal cord injury. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17018.
- 5 Quadri SA, Farooqui M, Ikram A, Zafar A, Khan MA, Suriya SS et al. Recent update on basic mechanisms of spinal cord injury. *Neurosurg Rev* 2020; 43: 425-441.
- 6 Hauben E, Nevo U, Yoles E, Moalem G, Agranov E, Mor F et al. Autoimmune T cells as potential neuroprotective therapy for spinal cord injury. *Lancet* 2000; 355: 286-287.
- 7 Rodríguez-Barrera R, Flores-Romero A, García E, Fernández-Presas AM, Incontri-Abraham D, Navarro-Torres L et al. Immunization with neural-derived peptides increases neurogenesis in rats with chronic spinal cord injury. *CNS Neurosci Ther* 2020; 26: 650-658.
- 8 Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB et al. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol* 2001; 24: 254-264.
- 9 Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic spinal cord injury: An overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms. *Front Neurol* 2019; 10: 282.
- 10 Venkatesh K, Ghosh SK, Mullick M, Manivasagam G, Sen D. Spinal cord injury: pathophysiology, treatment strategies, associated challenges, and future implications. *Cell Tissue Res* 2019; 377: 125-151.
- 11 Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 1995; 5: 407-413.
- 12 Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135-159.
- 13 Hall ED, Andrus PK, Yonkers PA, Smith SL, Zhang JR, Taylor BM et al. Generation and detection of hydroxyl radical following experimental head injury. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 738: 15-24.
- 14 Farooque M, Hillered L, Holtz A, Olsson Y. Effects of moderate hypothermia on extracellular lactic acid and amino acids after severe compression injury of rat spinal cord. *J Neurotrauma* 1997; 14: 63-69.
- 15 Goldshmit Y, Banyas E, Bens N, Yakovchuk A, Ruban A. Blood glutamate scavengers and exercises as an effective neuroprotective treatment in mice with spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 2020; 33: 692-704.
- 16 Park E, Velumian AA, Fehlings MG. The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *J Neurotrauma* 2004; 21: 754-774.
- 17 Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in traumatic spinal cord injury. *Nat Med* 1999; 5: 943-946.
- 18 Dusart I, Schwab ME. Secondary cell death and the inflammatory reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 1994; 6: 712-724.
- 19 Beck KD, Nguyen HX, Galvan MD, Salazar DL, Woodruff TM, Anderson AJ. Quantitative analysis of cellular inflammation after traumatic spinal cord injury: evidence for a multiphasic inflammatory response in the acute to chronic environment. *Brain* 2010; 133: 433-447.
- 20 Carlson SL, Parrish ME, Springer JE, Doty K, Dosssett L. Acute inflammatory response in spinal cord following impact injury. *Exp Neurol* 1998; 151: 77-88.
- 21 Wu F, Ding X-Y, Li X-H, Gong M-J, An J-Q, Lai J-H et al. Cellular inflammatory response of the spleen after acute spinal cord injury in rat. *Inflammation* 2019; 42: 1630-1640.
- 22 Guizar-Sahagun G, Grijalva I, Madrazo I, Franco-Bourland R, Salgado H, Ibarra A et al. Development of post-traumatic cysts in the spinal cord of rats-subjected to severe spinal cord contusion. *Surg Neurol* 1994; 41: 241-249.
- 23 Popovich PG, Wei P, Stokes BT. Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague-Dawley and Lewis rats. *J Comp Neurol* 1997; 377: 443-464.
- 24 Gensel JC, Zhang B. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury. *Brain Res* 2015; 1619: 1-11.
- 25 Ibarra A, Correa D, Willms K, Merchant MT, Guizar-Sahagún G, Grijalva I et al. Effects of cyclosporin-A on immune response, tissue protection and motor function of rats subjected to spinal cord injury. *Brain Res* 2003; 979: 165-178.
- 26 Butovsky O, Hauben E, Schwartz M. Morphological aspects of spinal cord autoimmune neuroprotection:



- colocalization of T cells with B7--2 (CD86) and prevention of cyst formation. *FASEB J* 2001; 15: 1065-1067.
- 27 Jones TB. Lymphocytes and autoimmunity after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2014; 258: 78-90.
- 28 Moalem G, Gdalyahu A, Shani Y, Otten U, Lazarovici P, Cohen IR et al. Production of neurotrophins by activated T cells: implications for neuroprotective autoimmunity. *J Autoimmun* 2000; 15: 331-345.
- 29 Barouch R, Schwartz M. Autoreactive T cells induce neurotrophin production by immune and neural cells in injured rat optic nerve: implications for protective autoimmunity. *FASEB J* 2002; 16: 1304-1306.
- 30 Ibarra A, García E, Flores N, Martiñón S, Reyes R, Campos MG et al. Immunization with neural-derived antigens inhibits lipid peroxidation after spinal cord injury. *Neurosci Lett* 2010; 476: 62-65.
- 31 Rodríguez-Barrera R, Fernández-Presas AM, García E, Flores-Romero A, Martiñón S, González-Puertos VY et al. Immunization with a neural-derived peptide protects the spinal cord from apoptosis after traumatic injury. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 827517.
- 32 Bethea JR, Castro M, Keane RW, Lee TT, Dietrich WD, Yezierski RP. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. *J Neurosci* 1998; 18: 3251-3260.
- 33 Raposo C, Graubardt N, Cohen M, Eitan C, London A, Berkutzki T et al. CNS repair requires both effector and regulatory T cells with distinct temporal and spatial profiles. *J Neurosci* 2014; 34: 10141-10155.
- 34 Lee K-H, Yun S-J, Nam KN, Gho YS, Lee EH. Activation of microglial cells by ceruloplasmin. *Brain Res* 2007; 1171: 1-8.
- 35 Li L, Lu J, Tay SSW, Mochhala SM, He BP. The function of microglia, either neuroprotection or neurotoxicity, is determined by the equilibrium among factors released from activated microglia in vitro. *Brain Res* 2007; 1159: 8-17.
- 36 Tang Y, Le W. Differential roles of M1 and M2 microglia in neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol* 2016; 53: 1181-1194.
- 37 Li J, Yu S, Lu X, Cui K, Tang X, Xu Y et al. The phase changes of M1/M2 phenotype of microglia/macrophage following oxygen-induced retinopathy in mice. *Inflamm Res* 2021; 70: 183-192.
- 38 Shaked I, Porat Z, Gersner R, Kipnis J, Schwartz M. Early activation of microglia as antigen-presenting cells correlates with T cell-mediated protection and repair of the injured central nervous system. *J Neuroimmunol* 2004; 146: 84-93.
- 39 Franciosi S, Choi HB, Kim SU, McLarnon JG. IL-8 enhancement of amyloid-beta (Abeta 1-42)-induced expression and production of pro-inflammatory cytokines and COX-2 in cultured human microglia. *J Neuroimmunol* 2005; 159: 66-74.
- 40 Fan B, Wei Z, Yao X, Shi G, Cheng X, Zhou X et al. Microenvironment imbalance of spinal cord injury. *Cell Transplant* 2018; 27: 853-866.
- 41 Vanegas H, Schaible HG. Prostaglandins and cyclooxygenases [correction of cyclooxygenases] in the spinal cord. *Prog Neurobiol* 2001; 64: 327-363.
- 42 López-Vales R, García-Álías G, Guzmán-Lenis MS, Forés J, Casas C, Navarro X et al. Effects of COX-2 and iNOS inhibitors alone or in combination with olfactory ensheathing cell grafts after spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)* 2006; 31: 1100-1106.
- 43 Kroner A, Rosas Almanza J. Role of microglia in spinal cord injury. *Neurosci Lett* 2019; 709: 134370.
- 44 Schwartz M. Sell Memorial Lecture. Helping the body to cure itself: immune modulation by therapeutic vaccination for spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 2003; 26 Suppl 1: S6-10.
- 45 Schwartz M, Kipnis J. Self and non-self discrimination is needed for the existence rather than deletion of autoimmunity: the role of regulatory T cells in protective autoimmunity. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 2285-2289.
- 46 Shaked I, Tchoresh D, Gersner R, Meiri G, Mordechai S, Xiao X et al. Protective autoimmunity: interferon-gamma enables microglia to remove glutamate without evoking inflammatory mediators: IFN- α -activated microglia benefits neurons. *J Neurochem* 2005; 92: 997-1009.
- 47 Butovsky O, Ziv Y, Schwartz A, Landa G, Talpalar AE, Pluchino S et al. Microglia activated by IL-4 or IFN-gamma differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. *Mol Cell Neurosci* 2006; 31: 149-160.
- 48 Hauben E, Butovsky O, Nevo U, Yoles E, Moalem G, Agranov E et al. Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion. *J Neurosci* 2000; 20: 6421-6430.
- 49 Kipnis J, Yoles E, Schori H, Hauben E, Shaked I, Schwartz M. Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response. *J Neurosci* 2001; 21: 4564-4571.
- 50 Yoles E, Hauben E, Palgi O, Agranov E, Gothilf A, Cohen A et al. Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma. *J Neurosci* 2001; 21: 3740-3748.



- 51 Nel AE, Slaughter N. T-cell activation through the antigen receptor. Part 2: role of signaling cascades in T-cell differentiation, anergy, immune senescence, and development of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 901-915.
- 52 Hauben E, Schwartz M. Therapeutic vaccination for spinal cord injury: helping the body to cure itself. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24: 7-12.
- 53 Gaur A, Boehme SA, Chalmers D, Crowe PD, Pahuja A, Ling N et al. Amelioration of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with altered myelin basic protein peptides involves different cellular mechanisms. *J Neuroimmunol* 1997; 74: 149-158.
- 54 Ibarra A, Hauben E, Butovsky O, Schwartz M. The therapeutic window after spinal cord injury can accommodate T cell-based vaccination and methylprednisolone in rats. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 2984-2990.
- 55 Martiñón S, García E, Flores N, Gonzalez I, Ortega T, Buenrostro M et al. Vaccination with a neural-derived peptide plus administration of glutathione improves the performance of paraplegic rats: Improvement of protective autoimmunity. *Eur J Neurosci* 2007; 26: 403-412.
- 56 Hauben E, Gothilf A, Cohen A, Butovsky O, Nevo U, Smirnov I et al. Vaccination with dendritic cells pulsed with peptides of myelin basic protein promotes functional recovery from spinal cord injury. *J Neurosci* 2003; 23: 8808-8819.
- 57 García E, Silva-García R, Mestre H, Flores N, Martiñón S, Calderón-Aranda ES et al. Immunization with A91 peptide or copolymer-1 reduces the production of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase gene expression after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2012; 90: 656-663.
- 58 Martiñón S, García-Vences E, Toscano-Tejeida D, Flores-Romero A, Rodríguez-Barrera R, Ferrusquia M et al. Long-term production of BDNF and NT-3 induced by A91-immunization after spinal cord injury. *BMC Neurosci* 2016; 17: 42.
- 59 García E, Silva-García R, Flores-Romero A, Blancas-Espinoza L, Rodríguez-Barrera R, Ibarra A. The severity of spinal cord injury determines the inflammatory gene expression pattern after immunization with neural-derived peptides. *J Mol Neurosci* 2018; 65: 190-195.
- 60 Rodríguez-Barrera R, Flores-Romero A, Fernández-Presas AM, García-Vences E, Silva-García R, Konigsberg M et al. Immunization with neural derived peptides plus scar removal induces a permissive microenvironment, and improves locomotor recovery after chronic spinal cord injury. *BMC Neurosci* 2017; 18. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0331-2>
- 61 Martiñón S, García E, Gutiérrez-Ospina G, Mestre H, Ibarra A. Development of protective autoimmunity by immunization with a neural-derived peptide is ineffective in severe spinal cord injury. *PLoS One* 2012; 7: e32027.
- 62 Santoscoy C, Ríos C, Franco-Bourland RE, Hong E, Bravo G, Rojas G et al. Lipid peroxidation by nitric oxide supplements after spinal cord injury: effect of antioxidants in rats. *Neurosci Lett* 2002; 330: 94-98.
- 63 Guízar-Sahagún G, Ibarra A, Espitia A, Martínez A, Madrazo I, Franco-Bourland RE. Glutathione monoethyl ester improves functional recovery, enhances neuron survival, and stabilizes spinal cord blood flow after spinal cord injury in rats. *Neuroscience* 2005; 130: 639-649.
- 64 Dröge W, Schulze-Osthoff K, Mihm S, Galter D, Schenk H, Eck HP et al. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB J* 1994; 8: 1131-1138.
- 65 García E, Rodríguez-Barrera R, Buzoianu-Anguiano V, Flores-Romero A, Malagón-Axotla E, Guerrero-Godínez M et al. Use of a combination strategy to improve neuroprotection and neuroregeneration in a rat model of acute spinal cord injury. *Neural Regen Res* 2019; 14: 1060-1068.
- 66 Parra-Villamar D, Blancas-Espinoza L, Garcia-Vences E, Herrera-García J, Flores-Romero A, Toscano-Zapien A et al. Neuroprotective effect of immunomodulatory peptides in rats with traumatic spinal cord injury. *Neural Regen Res* 2021; 16: 1273-1280.