

## RESUMEN

Los receptores tipo Toll, TLR, son receptores clave en la defensa contra los patógenos capaces de iniciar la respuesta inmunitaria innata para proteger al huésped. Su papel no solo se relega a responder a estímulos foráneos, sino que también pueden detectar daños en los tejidos o células lesionadas induciendo su respuesta a lo que se conoce como “inflamación estéril”. Las células del sistema inmunitario no son las únicas que presentan TLR; también se encuentran en células de la glía, neuronas y precursores neurales (NPC). TLR2 y TLR4 en NPC en cerebro contribuyen a la determinación del destino celular y plasticidad neuronal. Sin embargo, sus funciones en la fisiopatología de la médula espinal no están bien definidas, así como en procesos críticos como la neurogénesis, autorrenovación o proliferación. Esta tesis doctoral, distribuida entre tres capítulos, se ha centrado 1) en el estudio del papel de TLR2 y TLR4 en precursores derivados de médula espinal neonatal (**Capítulo 1**); 2) en evaluar el papel de ambos, TLR2 y TLR4 en el proceso de regeneración espontánea o tras trasplante ectópico de NPC, en un modelo de lesión medular inducida (**Capítulo 2**); 3) en el estudio del papel de TLR4 en la modulación del fenotipo inflamatorio en respuesta al proteoglicano condroitín sulfato (CSPG) secretado tras la lesión medular con actividad inhibitoria del recrecimiento axonal tras lesión medular (**Capítulo 3**).

En el **capítulo 1**, empleando ratones neonatales deficientes para TLR2 o TLR4, se describe la relevancia de ambos receptores en el mantenimiento de la población de precursores neurales, positivos para SOX2 en la médula espinal neonatal. Además, la expresión de TLR2 limita su capacidad de proliferación y autorrenovación favoreciendo su diferenciación neural, mientras que la expresión de TL4 la limita, posiblemente mediado a través de la expresión diferencial de Neurogenina1. Ambos receptores resultan necesarios en la maduración de los precursores de oligodendrocitos.

En el **capítulo 2**, se evalúa la influencia de TLR2 y TLR4 tanto en la regeneración espontánea tras una lesión medular como en la tolerancia, en términos de supervivencia e integración al trasplante de precursores neurales. La ausencia de TLR4 genera un déficit significativo en la regeneración espontánea de la capacidad locomotora en comparación con animales de la cepa salvaje. La ausencia de TLR4 disminuye significativamente la preservación de los tractos neuronales en el epicentro de la lesión y la ausencia de TLR2

genera una mayor área de lesión. En el estudio del papel de TLR2 y TLR4 en NPC trasplantados tras una lesión medular encontramos que aquellos NPC carentes de TLR4 confieren una mejor preservación de las fibras neuronales en la región caudal a la lesión, con un incremento significativo en la expresión de BDNF. Sin embargo, el trasplante de NPC carentes de TLR2 genera una mayor área de lesión con un aumento en la expresión de STAT3. Por otro lado, el trasplante de NPC, con o sin TLR2 o TLR4, en el modelo de lesión medular compresiva severa, no mejoró en ningún caso significativamente la actividad locomotriz en comparación con los animales no trasplantados. Sin embargo, el trasplante de NPC en animales carentes de TLR4 –cuya capacidad de regeneración espontánea está muy limitada- mejora la preservación de fibras neuronales en el epicentro de la lesión.

En el **capítulo 3** se describe el papel de TLR4 en la modulación del fenotipo inflamatorio de los macrófagos en respuesta a CSPG empleando un inhibidor específico de este receptor y macrófagos procedentes de ratones carentes del mismo. Los resultados indican que los CSPG inducen un fenotipo pro-inflamatorio en macrófagos M2 o antiinflamatorios, mediado por TLR4, ya que la ausencia tanto de la actividad como de su expresión impide la inducción de IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  o iNOS en presencia de CSPGs.

En conclusión, podemos afirmar que TLR2 y TLR4 poseen un papel relevante durante la maduración e identidad celular de los NPC en medula espinal neonatal sana. Tras una lesión medular, en el individuo adulto, ambos receptores influyen positivamente en su regeneración espontánea, sin embargo, la presencia de TLR4 podría limitar la capacidad neuroprotectora tras un trasplante de NPC de forma ectópica y contribuir a extender y mantener las respuestas pro-inflamatorias. Es por todo ello que, el estudio más detallado del papel de TLR2 y TLR4 y su contribución tras una lesión medular podría contribuir a esclarecer mecanismos relacionados con su inducción y resolución, constituyendo además una potencial diana de trabajo en las estrategias de terapia, incluida la terapia celular basada en el uso de NPC.