

Departamento de Fisiología
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

Función de las metalotioneínas en la patogenia de la
encefalomielitis autoinmune experimental y de la
esclerosis múltiple. Implicaciones terapéuticas

Carmen Espejo Ruiz
Tesis doctoral

Programa de doctorado en Inmunología
Bienio 1998-2000

Memoria de la tesis presentada por
Carmen Espejo Ruiz
para optar al grado de Doctor en Biología

Director de la tesis
Dr. Xavier Montalban Gairín
Director de la Unitat de
Neuroimmunologia Clinica
Hospital Univeristari Vall d'Hebron

Directora de la tesis
Dra. Eva M Martínez-Cáceres
Facultativo especialista en
inmunología LIRAD-CTBT
Hospital Universitari Germans
Trias i Pujol

Tutor de la tesis
Dr. Antonio Celada Cotarelo
Catedrático de Inmunología
Departamento de Fisiología
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

Barcelona, 7 de Julio de 2005

**A Pedro y María, por su enorme paciencia
y por el tiempo que este trabajo les ha “robado”**

La ciencia de vivir es el arte de amar

Rubén Darío

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar querría recordar a una persona que ya no esta entre nosotros pero que para mí fue alguien importante en el inicio de este trabajo, el Dr. Fernando Angulo. A Fernando Angulo y Margarita Ibáñez, dos personas excelentes, amigos y jefes durante el tiempo que estuve estudiando la carrera. Gracias por inculcarme la importancia de aprender y de investigar. Con ellos, participando de sus proyectos, decidí que este proyecto que hoy presento era una de mis prioridades.

A Enric Espel, mi profe de inmuno, gracias por confiar en mí y por ofrecerme esta oportunidad.

A mis directores de tesis. A Xavier Montalban, director de la Unitat de Neuroimmunologia Clínica (UNiC), por haberme dado la oportunidad de formar parte de la UNiC y permitirme hacer aquello que siempre había deseado, ser “investigadora”. También por confiar en mí y apoyarme cuando lo he necesitado. A Eva Martínez-Cáceres, jefa del Lab de la UNiC cuando yo llegué a ella, que me guió siempre en mis trabajos y mis pensamientos científicos. Y que ahora, más que una ex-jefa, es una amiga. Vosotros sois tan responsables como yo de este trabajo, espero que para bien.

A Antonio Celada, el tutor de esta tesis. Con el que también he tenido la suerte de colaborar en algún trabajo y beneficiarme de su saber. Gracias por todo.

A todos mis antiguos compañeros de la UNiC. Nombrarlos a todos, después de tantos años, sería hacer un listado de nombres que para la mayoría de las personas que lean esta tesis no significaría mucho, pero que para mí trabajar con ellos ha sido una experiencia enriquecedora científica y cotidianamente, gracias a todos.

A Irene Sáez-Torres, que aunque ex-miembro de la UNiC me permito un punto y aparte. Gracias por compartir conmigo tus conocimientos, tus inquietudes y tu amistad. Sin ti seguro que mi entusiasmo por el lab y el trabajo que he realizado no hubiese sido el que es.

A mis compañeros actuales, con los que sigo compartiendo mi ilusión por la ciencia y el trabajo en el laboratorio. A los del “lab”: al jefe, Manolo Comabella y a todas las chicas: Mireia, Cristina, Montse y Eva. Bueno, también al único chico, Hammad. ¡Quizás esto de la ciencia sea cada vez más cosas de mujeres!. A los “médicos”: Mar, Jordi, Carlos, Ingrid, Neus, Raúl y Héctor. A las “enfermeras”: Rosalía y María José. A las “psicólogas”: Joana, María Jesús y Ángela. A los

“secres”: Dúnia, Eli M., Ana Gil, Mila, Eli I. y, en especial, por toda su ayuda para solucionar infinidad de problemas de todo tipo, a Josep Graells. Y por último, aunque no por ello meno importante, a Dani, “el informático”, que está trabajando para facilitarnos el trabajo a todos. Ojalá sigamos compartiendo esta aventura durante muchos años más.

A Roland y Mireia, que aunque se han incorporado recientemente a la UNIC, ya han aportado su granito de arena a este trabajo. Espero que podamos compartir otros muchos trabajos y experiencias. Gracias.

A la Fundación de Esclerosis Múltiple, por colaborar y fomentar la investigación en el campo de la esclerosis múltiple.

A los diferentes grupos del Hospital Universitari Vall d’Hebron que de alguna forma han facilitado y han colaborado en la realización de este trabajo. Al CIBBIM dirigido por el Dr. S. Schwartz que durante años nos acogieron en su estabulario. Al grupo de la Dra. T. Español que siempre nos han facilitado el trabajo y nos han ayudado cuando lo hemos requerido. Al grupo del Dr. J Arribas, en especial a Marta Guzmán, por facilitarnos el trabajo con los animales cuando lo necesitamos. A la Dra. A. Ortega, neuropatóloga del hospital, que me ha ayudado a enterder la histopatología de la esclerosis múltiple y con la que he colaborado en algunos de los trabajos que se presentan en esta tesis.

A los miembros del IR-HUVH y a su director el Dr. JE Feliu por su labor, junto con los investigadores, en hacer realidad el institut de recerca.

A Marta Rosal, “la veterinaria”, con la que hemos pasado horas haciendo una investigación “paralela” que casi daría para publicar otra tesis. Gracias por esos ratos en el estabulario y por tu ayuda. Disculpa por los dolores de cabeza que te voy a seguir ocasionando.

A Nuria Prim, una super mujer para todo. Gracias por ser tan resolutiva y estar siempre para echar una mano.

A Jordi Barquinero y Herena Eixarch con los que comparto nuevos proyectos y con los que espero obtener tan buenos o mejores resultados que los que se presentan en esta tesis.

A otros investigadores, que aunque no han participado directamente en este trabajo si lo han hecho indirectamente, con sus opiniones, sugerencias, y el que

hacer diario de la investigación. En especial a Jordi Xaus, Maribel Mirabet, Pilar Pina y Mònica Carol.

A Juan Hidalgo, profesor de Fisiología de la UAB y responsable del grupo de Metalotioneínas, con el que empezamos a colaborar hace ya seis años, la verdad con bastante fortuna, y que también ha aportado “su saber y buen hacer” a los trabajos que se presentan en esta tesis. A los miembros de su grupo, en especial a Mercè, Amalia, Javier, Quino y Sergi, gracias por compartir proyectos y ratos de laboratorio.

A Milena Penkowa, una neuropatóloga danesa con la que un día, hace ya seis años, empezamos a colaborar y que sin ella esta tesis hubiese sido un trabajo mucho más modesto.

A mi familia. Una parte importante de mi vida, quizás la más importante. A mis padres, mis hermanos, mis cuñados y mis sobrinas. Gracias por ser una familia ejemplar y estar ahí siempre que os he necesitado.

A mi otra familia, que aunque llegó más tarde a mi vida creo que también hemos conseguido grandes cosas. A mis suegros, mis cuñados y mi ahijada.

A las dos personas que más quiero. A tí, Pedro. La verdad es que sin tí probablemente yo no estaría escribiendo ahora ésto. Gracias por apoyarme y soportarme en los malos momentos, por compartir los buenos y por estar siempre a mi lado. A María, el proyecto más importante de mi vida y con los mejores resultados. Ojalá tengas las oportunidades que yo he tenido y las vivas con tantas ganas y felicidad como lo he hecho yo. Un beso para los dos.

Que nadie se sienta no incluido en este apartado, a veces la memoria juega malas pasadas, por lo que cualquier omisión ha sido totalmente involuntaria. Gracias a los que no están pero tendrían que estar.

Indice

Introducción

Esclerosis múltiple

1	Etiología	25
	1.1. Factores genéticos	
	1.2. Factores ambientales	
	1.3. Otros factores moduladores	
	1.4. Antígenos candidatos	
2	Aspectos clínicos	28
3	Anatomía patológica	29
4	Patogenia	30
	4.1. Proceso inflamatorio	
	4.2. Mecanismos patogénicos de daño tisular	
	4.3. Remielinización	
5	Tratamientos	43

Encefalomiелitis autoinmune experimental

1	Inducción de la EAE	45
	1.1. Susceptibilidad	
	1.2. Antígenos	
2	Curso clínico	46
3	Histopatología	47
4	Patogenia	48

Metalotioneínas

1	Estructura	50
2	Localización	51
3	Regulación	52
	3.1. Metales	
	3.2. Hormonas	
	3.3. Citocinas	
	3.4. Estrés oxidativo	
	3.5. Otros inductores	
4	Funciones	58
	4.1. MT-I y MT-II	
	4.2. MT-III	
	4.3. MT-IV	

Objetivos **65**

Trabajos experimentales

1	Expresión diferencial de metalotioneínas en el SNC de ratones con EAE	69
	Differential expression of metallothionein in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis Neuroscience 2001; 105: 1055-1065	
2	Expresión de marcadores de inflamación, neurodegeneración, reparación tisular y metalotioneínas en el SNC durante el curso clínico de la EAE	83
	Time-course expression of CNS inflammatory, neurodegenerative tissue repair markers and metallothioneins during experimental autoimmune encephalomyelitis Neuroscience 2005; 132: 1135-1149	
3	Respuesta inflamatoria alterada y aumento de la neurodegeneración en ratones deficientes en metalotioneína I+II durante la EAE	101
	Altered inflammatory response and increased neurodegeneration in metallothionein I+II deficient mice during experimental autoimmune encephalomyelitis J Neuroimmunol 2001; 119: 248-260	

4	Aumento de la desmielinización y del daño axonal en ratones deficientes en metalotioneína I+II durante la EAE Increased demyelination and axonal damage in metallothionein I+II-deficient mice during experimental autoimmune encephalomyelitis Cell Mol Life Sci 2003; 60: 185-197	117
5	Expresión de metalotioneínas en el SNC de pacientes con esclerosis múltiple Metallothionein expression in the central nervous system of multiple sclerosis patients Cell Mol Life Sci 2003; 60: 1258-1266	133
	Discusión	147
	Conclusiones	161
	Bibliografía	165

Portada: Inmunorreactividad frente a MT-I y MT-II en astrocitos reactivos en una lesión de EM (Foto cedida por M. Penkowa, Dep. Medical Anatomy-The Panum Institute, Faculty of Health Sciences, University of Copenhagen, Denmark).