



UNIVERSITAT DE BARCELONA



FACULTAT DE FARMÀCIA

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular

**Estudios sobre la inducción de tolerancia
inmunológica mediante la expresión de
antígenos en células hematopoyéticas murinas.
Aplicación a un modelo experimental de
enfermedad autoinmune.**

Herena Eixarch Ahufinger
2008

PRESENTACIÓN

El trabajo que se presenta en esta tesis ha sido realizado en el laboratorio de *Teràpia Cel·lular i Gènica*, del *Banc de Sang i Teixits* ubicado en el *Institut de Recerca de l'Hospital Universitari Vall d'Hebron*. El laboratorio está dirigido por el Dr. Jordi Barquinero, que también ha dirigido esta tesis doctoral.

El grupo ha desarrollado una intensa labor de investigación en el área de la terapia génica y del trasplante de progenitores hematopoyéticos a lo largo de su trayectoria. Una de las líneas de investigación ha consistido en estudiar la necesidad de acondicionamiento y la búsqueda de regímenes mínimamente mieloablativos que permitieran el injerto de células hematopoyéticas transducidas en un modelo murino de trasplante singénico. En este sentido, en trabajos previos se demostró que el trasplante de células hematopoyéticas murinas que expresaban un transgén potencialmente inmunogénico, previo acondicionamiento con dosis bajas y no mieloablativas de ICT, permitían el injerto estable y a largo plazo de células modificadas genéticamente. El hecho que incluso en una situación de microquimerismo molecular, la expresión de un transgén potencialmente inmunogénico se mantuviera a largo plazo, sugería que pautas mínimas de mieloablación eran suficientes para conseguir quimerismos moleculares estables e inducir tolerancia inmunológica frente al producto del transgén. Partiendo de este concepto desarrollamos el trabajo principal que se presenta en esta tesis: quisimos investigar si la creación de quimerismo o microquimerismo molecular también podría utilizarse para inducir tolerancia en situaciones clínicamente más relevantes como las enfermedades autoinmunes.

Para llevar a cabo los estudios de tolerancia en un modelo murino iniciamos una estrecha colaboración con la Dra. Carmen Espejo y el Dr. Xavier Montalban de la *Unitat de Neuroimmunologia Clínica del Hospital Universitari Vall d'Hebron*, que tienen una amplia experiencia en la EAE, el modelo animal de EM.

La segunda parte de la tesis doctoral se inició a raíz de unos resultados que nos sorprendieron en los estudios de tolerancia en el modelo de EAE. Observamos que, en condiciones parcialmente mieloablativas y con poca o nula inmunosupresión, las células transducidas con un vector que expresaba niveles elevados del gen marcador EGFP, parecían ser rechazadas específicamente, algo que no ocurría con células transducidas con un vector que expresaba la EGFP a niveles más bajos. Estas observaciones nos condujeron a investigar de manera prospectiva la importancia del nivel de expresión del transgén a la hora de inducir una respuesta inmune o de que se

induzca tolerancia, un hecho que creemos muy relevante a tener en cuenta a la hora de diseñar protocolos clínicos en el campo de la terapia génica.

Los resultados presentados en esta tesis han dado lugar a dos artículos que se han mandado a diferentes revistas internacionales para su publicación.

OBJETIVOS

Objetivos

- 1- Determinar si la expresión de MOG₄₀₋₅₅ en el sistema hematopoyético protege a los animales de desarrollar la EAE de forma preventiva utilizando una estrategia de trasplante hematopoyético parcialmente mieloablativo.
 - Establecer un régimen de acondicionamiento previo al trasplante que sea mínimamente mieloablativo y que no modifique significativamente el curso clínico de la enfermedad.
 - Determinar si niveles bajos de quimerismo molecular son suficientes para inducir tolerancia inmunológica.
- 2- Determinar si esta misma estrategia, pero aplicada a animales con EAE establecida, produce una remisión o mejoría de la enfermedad.
- 3- Determinar si el nivel de expresión de un transgén potencialmente inmunogénico (como la EGFP) en células hematopoyéticas transducidas y trasplantadas en ratones sometidos a mieloablación parcial es determinante en la inducción de una respuesta inmune o de tolerancia específica.