



**Fundació**  
La Marató de TV3

XVII SIMPOSIUM

Lesiones medulares y cerebrales adquiridas



## PAPEL TERAPÉUTICO DE LA INTERLEUCINA-37 EN LESIÓN DE LA MÉDULA ESPINAL

**Rubén López Vales**

Facultat de Medicina UAB



## 1. Resumen

La respuesta inflamatoria desempeña un papel esencial para la protección del organismo tras una lesión o invasión por microorganismos. Este proceso debe ser concienzudamente controlado, ya que una mínima desregulación puede ocasionar daños en los tejidos o, incluso, dar lugar a una patología inflamatoria.

La respuesta inflamatoria es un proceso crucial en la regeneración axonal en el sistema nervioso, tal y como se ha demostrado de forma consistente en varios modelos de lesión de nervio periférico. Sin embargo, tras una lesión medular (LM) se produce un control ineficaz de la respuesta inflamatoria, lo cual exacerba el daño tisular y dificulta la eliminación eficiente de la mielina en degeneración. Todo ello contribuye a la ausencia de la regeneración axonal.

La interleucina 37 (IL-37) es una citocina de la familia de la interleucina 1 (IL-1) que posee características únicas, puesto que limita marcadamente la inmunidad innata y adaptativa. Los ratones transgénicos para IL-37 humana exhiben menos signos patológicos en diferentes modelos animales, como el de endotoxemia, lesión pulmonar aguda, colitis química, isquemia de miocardio, síndrome metabólico y trastornos del sueño. Sin embargo, si la IL-37 media o no acciones antiinflamatorias en el sistema nervioso central, hasta ahora se desconocía.

Por todo ello, en este proyecto se investigó si la IL-37 reduce la respuesta inflamatoria después de la LM y si ello conlleva la reducción del daño tisular y los déficits funcionales asociados. Para llevar a cabo estos experimentos propusimos los siguientes objetivos:

1. Evaluar si la IL-37 reduce la inflamación tras la LM en un modelo de ratón.
2. Estudiar la implicación de la IL-37 en la reducción del daño secundario, los déficits funcionales y el dolor neuropático tras una lesión por contusión en la médula espinal en el ratón.
3. Elucidar si la IL-37 promueve regeneración axonal tras una LM en el ratón.

## 2. Resultados

### **OBJETIVO 1. EVALUAR SI LA IL-37 REDUCE LA INFLAMACIÓN EN LA LM EN UN MODELO DE RATÓN.**

Dado que la IL-37 no se expresa en el ratón, generamos un transgénico que expresa la forma humana de esta citocina (hIL-37tg) para estudiar sus efectos. El uso de este ratón demostró que la expresión de IL-37 en la médula espinal es mínima/indetectable en condiciones fisiológicas. Este bajo nivel se debe a la presencia de una secuencia de inestabilidad en el transcrito de la IL-37 que limita drásticamente su tiempo de vida. Sin embargo, después de la lesión por contusión se observó la inducción de IL-37 en el parénquima medular. El perfil de expresión de la IL-37 mostró picos de expresión: a las 12 horas y el día 3 después de la lesión, fases en las que los niveles de IL-37 aumentaron ~17 y ~35 veces, respectivamente. El pico inicial de IL-37 coincide con la inducción de citocinas en la médula espinal lesionada (6-24 horas después de la lesión), mientras que el segundo se correlaciona con la infiltración de monocitos procedentes de la circulación sanguínea (día 3).

A continuación examinamos si el aumento inicial de IL-37 modula la expresión de citocinas en la médula espinal lesionada. Observamos que la inducción de IL-37 redujo significativamente la expresión de 23 de las 32 citocinas evaluadas tras el daño medular, incluyendo una reducción del 80% en los niveles proteicos de interleucina 6, cuya actividad es proinflamatoria.

Dado que las citocinas regulan el reclutamiento y la activación de las células inmunes en la médula espinal lesionada, seguidamente estudiamos si la IL-37 reduce el número de estas células en el tejido lesionado. A las 24 horas tras la lesión, cuando el acúmulo de granulocitos alcanza niveles máximos en la médula espinal, los ratones hIL-37tg mostraron una reducción próxima al 40% del número de esta población leucocitaria. Por el contrario, no se observaron diferencias en el recuento de células microgliales o de macrófagos. Sin embargo, 7 días después de la lesión medular, momento en el que la acumulación de microglía y macrófagos en médula espinal lesionada alcanza su punto álgido, la IL-37 redujo significativamente el porcentaje de estas células inmunológicas.

Por tanto, los resultados de este objetivo demuestran que la IL-37 ejerce un potente efecto antiinflamatorio tras una lesión en la médula espinal.

**OBJETIVO 2. ESTUDIAR LA IMPLICACIÓN DE LA IL-37 EN LA REDUCCIÓN DEL DAÑO SECUNDARIO, LOS DÉFICITS FUNCIONALES Y EL DOLOR NEUROPÁTICO TRAS UNA LESIÓN POR CONTUSIÓN EN LA MÉDULA ESPINAL EN EL RATÓN.**

Se evaluó si la reducción de la respuesta inflamatoria mediada por la IL-37 en la LM reduce los déficits funcionales y el daño tisular. Nuestros datos revelan que la expresión de IL-37 mejoró significativamente las habilidades locomotoras de los animales tras la LM. Y 28 días después de la lesión todos los ratones *wild type* (WT) mostraron movimiento extenso de los tobillos y solo el 50% de estos fueron capaces de colocar la planta del pie en el suelo, sin ser capaces de soportar su propio peso. Por el contrario, todos los ratones hIL-37tg mostraron movimiento extenso del tobillo, colocación de la planta del pie en el suelo soportando su propio peso y la mayoría de ellos realizaron pasos, aunque sin coordinación entre patas delanteras y traseras. Además, los ratones hIL-37tg alcanzaron velocidades ~2,5 veces superiores en una cinta rodante. Estos hallazgos demuestran el efecto protector de la IL-37 frente a la pérdida funcional tras la LM.

Posteriormente se evaluó si la mejora en las habilidades motoras observada en los ratones hIL-37tg tras la LM se asocia a una reducción del daño tisular. El estudio histológico reveló mayor preservación de mielina en los ratones hIL-37tg en comparación con los WT. La prevención de la pérdida de mielina por la expresión de IL-37 fue especialmente evidente en el epicentro de la lesión, así como en regiones adyacentes a esta. Los estudios de preservación neuronal también pusieron de manifiesto que la IL-37 disminuye significativamente la pérdida de neuronas.

Para evaluar el potencial terapéutico de la IL-37 en la LM se administraron posteriormente dos formas recombinantes de la IL-37 (rIL-37). En primer lugar se evaluó el efecto de la administración del precursor de la IL-37 (longitud completa de la isoforma b), ya que estudios previos han demostrado su eficacia *in vivo*. También se aplicó una forma procesada de la IL-37 con el extremo N-terminal en valina 46. Dado que la barrera hematoencefálica impide la entrada de la mayoría de las moléculas al sistema nervioso

central, se administró la rIL-37 en el lugar de la lesión, 5 minutos después de producirse el daño, utilizando un vaso capilar (diámetro 30 micras). Los resultados de estos estudios demostraron que la inyección intraespinal de las dos formas de rIL-37 minimizó los déficits locomotores de los animales.

También evaluamos si la expresión transgénica de IL-37 atenúa el dolor neuropático tras la LM. Nuestros datos revelaron que los ratones hIL-37tg presentaban menor hipersensibilidad a estímulos dolorosos térmicos, pero no mecánicos.

Por tanto, los datos obtenidos en el presente objetivo demuestran que la IL-37 minimiza los déficits locomotores y el daño neural, así como el dolor neuropático a estímulos térmicos tras el daño medular por contusión.

### **OBJETIVO 3. ELUCIDAR SI LA IL-37 PROMUEVE REGENERACIÓN AXONAL TRAS UNA LM EN EL RATÓN.**

Dado que los macrófagos inhiben el crecimiento axonal mediante la liberación de factores solubles y por contacto celular, en este objetivo evaluamos si la IL-37 promueve regeneración axonal tras la LM. Para ello, realizamos una sección completa en la médula espinal de ratones hIL-37tg y ratones WT. Ambos grupos de animales presentaron parálisis completa de las extremidades posteriores tras la lesión y no se observó recuperación del movimiento en las 10 semanas de duración del estudio. La evaluación histológica de la médula espinal reveló que la expresión transgénica de IL-37 no indujo la regeneración de los axones del tracto córtico-espinal en regiones caudales al epicentro de la lesión. Asimismo, el recuento de axones en regiones rostrales adyacentes a la lesión tampoco reveló diferencia entre los ratones hIL-37tg y los WT, sugiriendo que la IL-37 promueve neuroprotección pero no regeneración axonal.

### **3. Impacto de los resultados**

Las lesiones de la médula espinal tienen como consecuencia graves déficits de la función motora, sensorial y autonómica. A pesar de que varios estudios muestran que la inflamación contribuye a la fisiopatología de la LM, ensayos clínicos utilizando altas dosis

de metilprednisolona no han resultado en mejoras significativas. La IL-37, un miembro de la familia de la IL-1, ejerce potentes efectos antiinflamatorios en varios modelos animales de enfermedades inflamatorias. Este proyecto muestra por primera vez en ratones transgénicos para la IL-37 que esta citocina reduce la magnitud de la respuesta inflamatoria en el sistema nervioso central y minimiza las discapacidades en ratones con LM. Asimismo, se demuestra que la administración exógena de esta proteína mejora las habilidades motoras en ratones con daño medular por contusión. Estos resultados, por tanto, sugieren que la IL-37 podría ser una nueva estrategia terapéutica para limitar los efectos nocivos de la respuesta inflamatoria en enfermedades neurológicas.

#### 4. Publicaciones

Los resultados presentados, excluyendo los que se refieren a los estudios de dolor neuropático, se han publicado recientemente en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, una de las revistas científicas con mayor factor de impacto:

Coll-Miro M, Francos-Quijorna I, Santos-Nogueira E, Torres-Espin A, Bufler P, Dinarello CA, López-Vales R (2016).

*Beneficial effects of IL-37 After Spinal Cord Injury in Mice.*

PNAS **113**:1411-1416. Factor de impacto: 9,8.

Estos hallazgos también se pusieron de relieve en los periódicos más importantes del mercado español, entre los que destacan *La Vanguardia*, *El Periódico*, *La Razón*, *ABC* y *El Mundo*, entre otros.