



EDITORIAL

El abordaje de la inmunoterapia específica de las enfermedades autoinmunes a través de la nanomedicina



The specific immunotherapy of autoimmune diseases through the nanomedicine

Joan Verdaguer

Unitat d'Immunologia, Departament de Medicina Experimental, Facultat de Medicina, Universitat de Lleida, Lleida, España; Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLleida), Lleida, España; CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), España

Desde tiempos inmemoriales, la humanidad ha tratado de encontrar remedios para aquellas enfermedades con una mayor morbilidad¹. Uno de los ejemplos más relevantes, y sin duda el de mayor éxito a nivel mundial, es el de la viruela y su tratamiento. Inicialmente con la variolización practicada durante milenios en los países orientales, y posteriormente, a partir de las observaciones de Edward Jenner en 1796, con la aplicación sistemática a nivel internacional de la «vacuna» con el virus *vaccinia*. Gracias a ello fue posible que finalmente la Organización Mundial de la Salud declarase extinguida dicha enfermedad del mundo en el año 1979.

La búsqueda de «balas mágicas», capaces de erradicar agentes infecciosos generando el menor efecto colateral, ha sido uno de los objetivos más anhelados en los tratamientos antimicrobianos. Desde los trabajos magistrales de Robert Koch y Louis Pasteur a finales del siglo XIX con la generación de las primeras vacunas atenuadas, pasando por Paul Ehrlich y Alexander Fleming con el descubrimiento de la quimioterapia para las infecciones bacterianas, hasta nuestros días con el descubrimiento de los tratamientos antirretrovirales y la generación de las nuevas vacunas recombinantes, el

desarrollo de tratamientos antimicrobianos ha sido enorme y determinante para la salud de la humanidad¹.

Esta extraordinaria explosión de conocimiento en el campo de los tratamientos antimicrobianos no ha sido aislada, sino que ha tenido lugar en todas las facetas de la medicina y las ciencias biológicas. Una de las disciplinas que ha sufrido un cambio más espectacular ha sido el de la Inmunología, en gran parte gracias al descubrimiento de la técnica de producción de los anticuerpos monoclonales por parte de Cesar Milstein y George Kohler en 1975². Hace tan solo 50 años, prácticamente solo se sabía que en el sistema inmunitario existían 2 poblaciones de linfocitos: los linfocitos T que se generaban en el timo y se caracterizaban por su capacidad de formar rosetas con hematíes de cordero, y los linfocitos B, productores de anticuerpos, cuyo origen ontogénico en los mamíferos era totalmente desconocido. Actualmente, y gracias al enorme esfuerzo a nivel internacional en la clasificación de los anticuerpos monoclonales por su especificidad antigénica en *clusters of differentiation* (CD), sabemos de la existencia de un número inacabable de moléculas, implicadas en múltiples funciones fisiológicas. La presencia de algunas de estas moléculas a nivel celular ha permitido definir diferentes subpoblaciones de linfocitos B y T, cada una de ellas con sus propias características funcionales. Por ejemplo, hoy sabemos que existen 2 grandes poblaciones de linfocitos T, los CD4+ y los CD8+. Sabemos

Correos electrónicos: joan.verdaguer@mex.udl.cat, joan.verdaguerautonell@yahoo.es

también que existen diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4+ con diferentes funciones de «ayuda» (*helper*) sobre el sistema inmune. Así conocemos la existencia de linfocitos CD4+ Th2 con capacidad de inducir la producción de anticuerpos a linfocitos B, de linfocitos CD4+ Th17 con la función de activar neutrófilos, de linfocitos CD4+ Th1 activadores de macrófagos o linfocitos T CD8+ citotóxicos, y también de linfocitos T CD4+ reguladores (linfocitos Tregs y Tr1 entre otros) generados por mecanismos diversos con funciones supresoras de la respuesta inmune. Por otro lado, sabemos que existen linfocitos T CD8+ con funciones citotóxicas, y también otros con funciones reguladoras. Conocemos igualmente la existencia de diferentes poblaciones de linfocitos B entre las cuales destacan los linfocitos B2 foliculares, que cuando se activan durante la respuesta adaptativa se transforman en células plasmáticas productoras de anticuerpos, los linfocitos de la zona marginal de la pulpa blanca, limítrofe con la pulpa roja del bazo, implicados mayormente en la respuesta de la inmunidad innata, y también la existencia de linfocitos B supresores (B10 o Bregs) con funciones reguladoras de la respuesta inmune.

Hoy sabemos también que existen millones de linfocitos T y B distintos que difieren entre ellos por tener receptores exclusivos de reconocimiento antigénico. En el caso de los linfocitos T, estos receptores se les conoce como *T cell receptor* (TCR), y es a través de ellos que los linfocitos T reconocen los antígenos en el contexto de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (*major histocompatibility complex*). El MHC, también conocido en humanos como *human leukocyte antigen* (HLA), está constituido por un conjunto de genes polimórficos que codifican moléculas de membrana de especial importancia en la presentación antigénica celular. Las moléculas de MHC de clase I se expresan constitutivamente en todas las células del organismo, excepto los hematíes, y presentan antígenos generados en el interior de la célula a linfocitos T CD8+. Por otro lado, las moléculas de MHC de clase II se expresan casi exclusivamente en la superficie de las células presentadoras de antígeno profesionales (APC) (*antigen presenting cells*), y presentan antígenos, mayormente captados del espacio extracelular, a linfocitos T CD4+. El grupo de las APC está constituido por varias poblaciones celulares del sistema inmune (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B) con la función de activar los linfocitos T en los distintos procesos de respuesta inmune. Para poder activar los linfocitos T, las APC, además de presentar antígenos en el contexto de las moléculas del MHC, deben expresar otras moléculas, como las moléculas coestimuladoras.

Es este extenso y complejo mundo de moléculas y células lo que, en definitiva, gobierna nuestro estado de salud y nos relaciona con todo aquello que nos es ajeno, distinguiéndolo de lo propio con un excelente y exquisito equilibrio. Es la pérdida de este equilibrio lo que puede conducir a un estado de autoinmunidad, es decir, al estado en que el sistema inmunitario responde a lo propio como si fuera algo ajeno, atacándolo hasta destruirlo. Actualmente sabemos que, durante la ontogenia, los linfocitos T y B sufren exhaustivos mecanismos de selección central que impiden que aquellos con un alto grado de autorreactividad maduren. Por otro lado, sabemos también que existen mecanismos posteriores de control que impiden que aquellos linfocitos autorreactivos que han eludido los controles de selección

central, una vez en la periferia, generen respuestas autoinmunes. De estos mecanismos de selección y control celular destacan: i) la «delección clonal», es decir, la inducción de la muerte por apoptosis durante la ontogenia de los linfocitos con alto grado de autorreactividad; ii) la «anergia», que se da tanto a nivel central como periférico, por la cual los linfocitos autorreactivos entran en un estado funcional caracterizado por la incapacidad de responder frente al autoantígeno reconocido, y iii) la transformación a nivel central y periférico de los linfocitos autorreactivos potencialmente dañinos en «células reguladoras» supresoras de la respuesta autoinmune.

Una vez se establece una enfermedad autoinmune, difícilmente se regresa al estado de equilibrio anterior, siendo necesario en la mayoría de casos algún tipo de tratamiento de por vida, sea este substitutivo del déficit que se ha generado con el ataque autoinmune, como por ejemplo la administración exógena de insulina en la diabetes tipo 1, o bien el uso de tratamientos inmunosupresores para controlar esta respuesta inapropiada del sistema inmune. Los tratamientos inmunosupresores son imprescindibles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes devastadoras, como la esclerosis múltiple, el lupus eritematoso, o la artritis reumatoide, pero conllevan un gran número de efectos indeseables derivados precisamente de su actividad inmunosupresora. Por otro lado, los tratamientos selectivos intentando promover una supresión específica han sido infructuosos hasta ahora.

En los últimos años, el grupo de investigadores dirigido por el Dr. Pere Santamaria del *Julia McFarlane Diabetes Research Centre* (JMDRC) de la Universidad de Calgary, Canadá, y del *Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer* (IDIBAPS) de Barcelona, ha diseñado un nuevo abordaje para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes basado en la «nanomedicina» con nanopartículas^{3,4}. Con dicha tecnología, estos investigadores han conseguido generar una supresión selectiva de la respuesta autoinmune sin afectar la función general del sistema inmune, es decir, un tratamiento que restablece el equilibrio perdido sin afectar el estado de inmunocompetencia del individuo. Las nanopartículas son estructuras esféricas de un tamaño inferior a los 100 nm de diámetro, con propiedades fisicoquímicas capaces de modificar las respuestas fisiológicas y/o fisiopatológicas celulares^{5,6}. Su estructura externa, composición, tamaño y forma son claves en su tropismo celular y orgánico. Los materiales utilizados en la generación de las nanopartículas van desde nanotubos de carbono a bolitas metálicas recubiertas de dextrano o polietilenglicol para aumentar su solubilidad, todas ellas cargadas de moléculas específicas en su superficie capaces de interactuar con ligandos presentes en las superficies celulares. Otros tipos de nanopartículas son de base lipídica, que al fusionarse con la membrana citoplasmática de las células les transfieren la carga molecular que transportan⁷.

La nanomedicina descrita por el grupo del Dr. P. Santamaria está generada con nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de polietilenglicol y de complejos moleculares de MHC de clase I o de clase II con epítomos de autoantígenos que son diana en procesos autoinmunes. Este enfoque terapéutico se basa en el efecto supresor y/o regulador que tiene sobre los linfocitos T el reconocimiento antigénico en el contexto de las moléculas de MHC en ausencia

de señales coestimuladoras. En una primera aproximación³, utilizando nanopartículas de óxido de hierro recubiertas con complejos de moléculas de MHC de clase I con un péptido (epítipo) de la proteína relacionada con la subunidad catalítica de la glucosa-6-fosfatasa específica de islote (IGRP), un autoantígeno que es diana de la respuesta autoinmune de linfocitos T CD8+ en la diabetes tipo 1 en ratones y humanos, indujeron la prevención y curación de la enfermedad en el modelo murino, el ratón NOD. El análisis del efecto terapéutico demostró que con esta nanomedicina se inducía la expansión sistémica de linfocitos T CD8+ reguladores con un TCR de baja afinidad para el péptido de IGRP, que eran capaces de inducir supresión y/o muerte de las APC. Los investigadores concluyeron que la destrucción de las APC impedía la posterior activación de linfocitos T CD8+ y CD4+ con TCR de alta afinidad para epítipos derivados de cualquier otro autoantígeno de célula beta captado por las APC in situ. Desafortunadamente, la limitación principal de esta aproximación terapéutica residía en la dificultad de poder ser aplicada en otras enfermedades autoinmunes, y por otro lado, en que no quedaba clara la existencia de esta población de linfocitos CD8+ reguladores en humanos.

Más recientemente⁴, utilizando nanopartículas recubiertas de moléculas de MHC de clase II con péptidos de autoantígenos que son diana del ataque autoinmune en diferentes modelos murinos de enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1, la esclerosis múltiple, o la artritis reumatoide, el mismo grupo ha demostrado, de forma nítida y concluyente, que con este enfoque terapéutico, también se induce la supresión de la respuesta autoinmune de forma selectiva y específica (una nanomedicina específica diseñada selectivamente para cada enfermedad) sin afectar la respuesta general del sistema inmune a otros antígenos. Los resultados demuestran que, en este caso, a diferencia de la aproximación previa, se induce un cambio de fenotipo de los linfocitos Th1, Th2, y/o Th17 autorreactivos hacia un fenotipo regulador de tipo Tr1 con capacidad supresora/reguladora. Los resultados también indican que con la generación de las Tr1 se produce una cascada de eventos celulares, entre los cuales la formación y expansión de linfocitos B reguladores (Bregs), que sinérgicamente con los Tr1 inducen la supresión posterior de la actividad proinflamatoria de las células APC implicadas en la promoción de la respuesta autoinmune. Es importante resaltar que con esta aproximación se produce el efecto terapéutico selectivo y específico en todos los modelos analizados, subrayando aún más su importancia como posible futura terapia para un gran número de enfermedades autoinmunes humanas. Este descubrimiento extraordinario puede representar un giro de 180 grados en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, un auténtico *breakthrough* en medicina que solo el tiempo dirá si puede incluso llegar a ser comparable a lo que significó la quimioterapia antibiótica en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

El siguiente paso será el de la aplicación de esta nanomedicina en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes

humanas. Antes, sin embargo, será necesario solventar los posibles problemas de su producción a gran escala, es decir, lo que sin duda resolverá el propio avance tecnológico, y analizar su efectividad en un organismo de proporciones miles de veces superior a la de un ratón, más complejo inmunológicamente, y con una variabilidad inmunogenética interespecie mayor. En este sentido, para evaluar el potencial terapéutico en humanos, los autores también analizan el efecto de esta nanoterapia en modelos murinos humanizados de diabetes tipo 1, es decir, en ratones inmunodeficientes reconstituidos con células mononucleares de pacientes con diabetes tipo 1. Los resultados son notables; en todos los animales tratados se induce una clara expansión de linfocitos T CD4+ Tr1 y linfocitos Bregs de los pacientes diabéticos con fenotipo regulador/supresor. La solidez de estos resultados claramente respalda el potencial terapéutico de esta nanomedicina en humanos, y por ello nos incita a soñar, en un futuro no muy lejano, en que auténticas «balas mágicas» serán una realidad para el tratamiento y curación de la autoinmunidad.

Agradecimientos y financiación

El autor agradece el soporte del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España (SAF2013-45140-R), y del CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM) del Instituto de Salud Carlos III. El autor es *professor agregat* (profesor contratado doctor) del programa Serra-Hunter de la Generalitat de Catalunya.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflicto de intereses en la elaboración del presente escrito.

Bibliografía

1. Hajj Hussein I, Chams N, Chams S, El Sayegh S, Badran R, Raad M, et al. Vaccines through centuries: Major cornerstones of global health. *Front Public Health*. 2015;3:269.
2. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256:495–7.
3. Tsai S, Shamel A, Yamanouchi J, Clemente-Casares X, Wang J, Serra P, et al. Reversal of autoimmunity by boosting memory-like autoregulatory T cells. *Immunity*. 2010;32:568–80.
4. Clemente-Casares X, Blanco J, Ambalavanan P, Yamanouchi J, Singha S, Fandos C, et al. Expanding antigen-specific regulatory networks to treat autoimmunity. *Nature*. 2016;530:434–40.
5. Zaman M, Good MF, Toth I. Nanovaccines and their mode of action. *Methods*. 2013;60:226–31.
6. Serra P, Santamaria P. Nanoparticle-based autoimmune disease therapy. *Clin Immunol*. 2015;160:3–13.
7. Ghaffar KA, Giddam AK, Zaman M, Skwarczynski M, Toth I. Liposomes as nanovaccine delivery systems. *Curr Top Med Chem*. 2014;14:1194–208.