Fundació
La Marató de TV3
22º SIMPOSIUM
Diabetes y Obesidad

UNA NUEVA ESPERANZA PARA LA DIABETES TIPO 1: NANOTERAPIA PARA DETENER LA AUTOINMUNIDAD COMBINADA CON REGENERACIÓN DE CÉLULAS BETA

Marta Vives Pi

HUGTiP Institut d'Investigació Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

1. Resumen

La diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) es una enfermedad metabólica de causa desconocida que afecta mayoritariamente a niños y adolescentes; compromete muy seriamente su calidad de vida y tiene importantes complicaciones secundarias. Además, su incidencia va en aumento a nivel mundial. La DM1 se diagnostica tras la destrucción de las células beta productoras de insulina por parte del sistema inmunitario y por este motivo se denomina *autoinmune*. La enfermedad era mortal hace un siglo, justo en el momento del descubrimiento de la insulina. La administración diaria de esta hormona es el tratamiento estándar en la actualidad, pero no está exenta de complicaciones. El fracaso de los ensayos clínicos con inmunoterapias realizados en las últimas décadas evidencia la necesidad de disponer de nuevas estrategias para la curación de esta enfermedad. Nuestro grupo ha generado una nueva nanoterapia basada en pequeñas partículas (llamadas *liposomas*) que frenan la autoinmunidad de manera definitiva y, por lo tanto, la destrucción de células beta en la DM1. Sin embargo, la inmunoterapia es insuficiente para revertir la enfermedad, ya que la mayor parte de las células productoras de insulina ha desaparecido. Por ello, la inmunoterapia en combinación con estrategias de regeneración podría contribuir a curar la enfermedad. Por lo tanto, el objetivo de este proyecto ha sido desarrollar una terapia combinada para la DM1 combinando liposomas con un medicamento con capacidad de regeneración de células beta; este fármaco se podía identificar mediante análisis de reposicionamiento de fármacos (es decir, un fármaco ya aprobado para uso en otras enfermedades humanas y con efecto regenerador).

En los tres años de desarrollo del proyecto, se probó el efecto de diversas formulaciones de liposomas, y se seleccionó el más efectivo tanto en ratones como en células del sistema inmunitario de pacientes con DM1. Se llevaron a cabo estudios de seguridad y tolerabilidad de los liposomas que demostraron que la inmunoterapia era segura, biocompatible y sin efectos secundarios. Al mismo tiempo, se llevó a cabo un análisis bioinformático y se obtuvo una lista de medicamentos candidatos con potencial regenerador. Se seleccionó uno de estos fármacos, llamado *liraglutida*, y se demostró que aumentaba la masa de células beta en ratones diabéticos mediante dos mecanismos: la neogénesis (generación de células beta a partir de ductos pancreáticos) y la transdiferenciación (generación de células beta a partir de células alfa de los islotes pancreáticos). Con estos resultados alentadores, el siguiente paso

fue combinar las dos estrategias y se demostró que la terapia combinada (inmunoterapia y regenerativa) es efectiva para revertir la DM1 experimental y no presenta efectos adversos observados. En conclusión, esta terapia es una estrategia innovadora candidata para la DM1.

Se aporta un vídeo, en catalán, con un comentario divulgativo a través de la Sociedad Catalana de Inmunología: https://www.youtube.com/watch?v=boOlYaaj1RM.

2. Resultados

Los resultados obtenidos en los tres años de desarrollo del proyecto se enumeran a continuación.

1. En primer lugar, definimos las características óptimas de las nanopartículas (liposomas) para una terapia combinada para la DM1, y determinamos el efecto de distintas formulaciones al frenar la autoinmunidad en un modelo experimental de la T1D, el ratón NOD (no obeso diabético), que desarrolla una DM1 similar a la humana. Se comprobaron la seguridad y la tolerabilidad de las nanopartículas que no mostraron efectos secundarios.

2. Se determinó el efecto tolerogénico de la inmunoterapia seleccionada en células dendríticas de pacientes con DM1 de los servicios de Pediatría y Endocrinología del Hospital Germans Trias i Pujol. El efecto fue tolerogénico y con potencial de frenar la autoinmunidad en células de pacientes adultos y pediátricos en todas las etapas de la enfermedad estudiadas.

3. En paralelo, se llevó a cabo un reposicionamiento de fármacos, en colaboración con la compañía Anaxomics Biotech, SL. Esta técnica bioinformática innovadora consiste en determinar efectos adicionales en fármacos ya empleados para otras enfermedades. Así, se obtuvo un listado de candidatos entre los que se identificó un fármaco (liraglutida) con capacidad para regenerar células beta. Este efecto se confirmó en ratones, en los que se demostró el mecanismo de acción, que era doble: regeneración de células beta en el páncreas a partir de células ductales (neogénesis) y a partir de

células alfa productoras de glucagón (transdiferenciación), como se muestra en la figura 1.

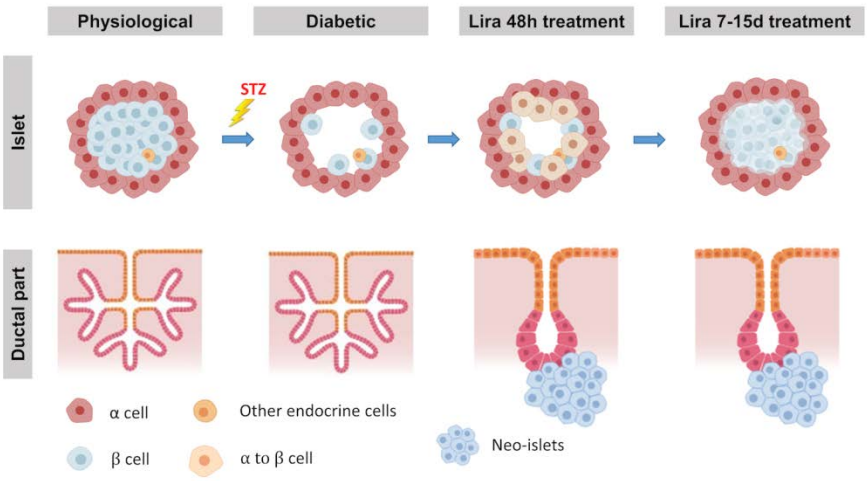

Figura 1. Modelo de regeneración de células beta inducida por el fármaco liraglutida. En la fila superior (de izquierda a derecha) se representa la eliminación de células beta con estreptozotocina (STZ), tras la cual se empezó a administrar liraglutida al ratón diabético, lo que causó transdiferenciación de células alfa (productoras de glucagón) a células beta (productoras de insulina). En la fila inferior se observa el efecto del fármaco sobre los ductos pancreáticos, el cual induce neogénesis de células beta a partir de células ductales y nueva aparición de estructuras de islote (neoislotes).

4. Una vez confirmado este efecto, se diseñó la terapia combinada con liposomas más liraglutida y se probó en el modelo experimental de la enfermedad, el ratón NOD, a nivel metabólico, inmunológico y regenerador. Los resultados mostraron que liraglutida tiene capacidad de reducir la hiperglicemia en diabetes tipo 1 regenerando células beta. La terapia combinada (liposomas más liraglutida) es efectiva para revertir la enfermedad a nivel experimental.

5. Para aproximar la terapia a las personas con DM1, se exploró su efecto en experimentos *in vitro* en células del sistema inmunitario de pacientes del Servicio de Endocrinología del Hospital Germans Trias i Pujol con resultados positivos. Se determinó también el efecto de la terapia combinada en ratones humanizados, viéndose que las dos estrategias combinadas no influían negativamente la una en la otra.

En resumen, se han alcanzado los objetivos del proyecto y, aunque se requiere investigación adicional sobre la terapia combinada desarrollada en este proyecto, podemos concluir que esta terapia puede ser candidata para la curación de la DM1 y abre la puerta a adaptar la misma estrategia a otras enfermedades autoinmunes.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Como resultado de este proyecto, se ha optimizado la inmunoterapia basada en liposomas generada por nuestro grupo en el 2015 y la demostración de su efecto en el sistema inmunitario humano. Al mismo tiempo, el análisis de reposicionamiento de fármacos llevado a cabo en colaboración con Anaxomics Biotech SL identificó un fármaco (liraglutida) con potencial regenerador para las células productoras de insulina afectadas en la DM1. Liraglutida (de nombre comercial Victoza®, Novo-Nordisk A/S) regenera las células beta mediante dos mecanismos diferentes, lo que contribuye a restaurar la normoglicemia en la diabetes tipo 1. Por lo tanto, hemos dado un paso adelante hacia una nueva estrategia terapéutica para la DM1 en forma de terapia combinada. Las implicaciones clínicas derivadas de los resultados y conclusiones de este proyecto o el posible impacto de estos resultados en la curación de los pacientes se detallan a continuación:

- Se definen los liposomas óptimos para un futuro ensayo clínico para la DM1.
- Mediante reposicionamiento de fármacos, hemos identificado un fármaco (liraglutida) que tiene un efecto regenerador de células beta. El hecho de que sea un producto ya disponible en el mercado hace que su aplicación en pacientes con DM1 pueda ser más rápida que la creación de un nuevo fármaco.
- Se demuestra que la terapia combinada funciona y es capaz de revertir la enfermedad. La prevención de la DM1 con liposomas se demostró anteriormente, pero la inmunoterapia por sí sola no era capaz de curarla. Combinar una inmunoterapia con un fármaco regenerador es un abordaje de terapia combinada para detener definitivamente la destrucción autoinmunitaria y regenerar las células beta. Hemos demostrado que la combinación de las dos terapias no altera ni disminuye el efecto de ninguno de los dos productos.

Este proyecto sitúa en el horizonte una terapia combinada innovadora para restaurar la secreción endógena de insulina y detener de manera definitiva el ataque autoinmune, y a la vez restablecer la tolerancia inmunológica de manera selectiva y sin comprometer el buen funcionamiento del sistema inmunitario.

4. Bibliografía científica generada

Artículos originales

- Rodríguez-Fernández S, Pujol-Autonell I, Brianso F, Perna-Barrull D, Cano-Sarabia M, Garcia-Jimeno S, Villalba A, Sanchez A, Aguilera E, Vázquez F, Verdaguer J, Maspoch D, Vives-Pi M.
Phosphatidylserine-Liposomes Promote Tolerogenic Features on Dendritic Cells in Human Type 1 Diabetes by Apoptotic Mimicry.
Frontiers in Immunology 9:253, 2018.

- Rodríguez-Fernández S, Murillo M, Villalba A, Perna-Barrull D, Cano-Sarabia M, Gomez-Muñoz L, Aguilera E, Maspoch D, Vazquez F, Bel J, Vives-Pi M.
Impaired phagocytosis in dendritic cells from pediatric patients with type 1 diabetes does not hamper their tolerogenic potential.
Frontiers in Immunology 10:2811, 2019.

- Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Ampudia RM, Cano-Sarabia M, Perna-Barrull D, Bertran-Cobo C, Ehrenberg C, Maspoch D, Vives-Pi M.
Preclinical evaluation of antigen-specific nanotherapy based on phosphatidylserine-liposomes for type 1 diabetes.
Artif Cell Nanomed Biotech. 48 (1):77-83, 2020.

- Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Perna-Barrull D, Ampudia RM, Gómez-Muñoz L, Pujol-Autonell I, Aguilera E, Coma M, Cano-Sarabia M, Vázquez F, Verdaguer J, Vives-Pi M.
Repurposed analogue of GLP-1 ameliorates hyperglycaemia in diabetic mice through pancreatic cell reprogramming.
Frontiers in Endocrinology, May 2020, 11:258, 2020.

- Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Perna-Barrull D, Ampudia RM, Gómez-Muñoz L, Pujol-Autonell I, Aguilera E, Risueño RM, Cano-Sarabia M, Maspoch D, Vázquez F, Vives-Pi M.
Antigen-specific immunotherapy combined with a regenerative drug in the treatment of experimental type diabetes.
Sci Rep 10:18927, 2020.

Tesis doctoral

Adrián Villalba Felipe
Combined therapy for type 1 diabetes: Immunotherapy and regenerative strategies.
Octubre del 2020.
Excelente *cum laude*.

Artículo divulgativo

Vives-Pi, M.
Reeducar al sistema inmunitario para detener el ataque a las células beta. La tolerancia es la clave.
Revista *Diabetes* (SED), pág. 20-23, diciembre del 2019.