



EDITORIAL

Estrategias innovadoras de base inmunológica en diabetes mellitus tipo 1



Innovative immunological strategies for type 1 diabetes

Marta Vives-Pi^{a,b,*} e Irma Pujol-Autonell^a

^a Servei d'Immunologia, Institut de Recerca Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, España

^b Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, España

La gran dificultad para el desarrollo de estrategias preventivas o terapéuticas para la diabetes mellitus tipo 1 (DT1) es su etiología aún desconocida. La administración de insulina exógena es el tratamiento sustitutivo estándar, pero a pesar de los avances en este campo, para la mayoría de los pacientes sigue siendo complicado alcanzar un buen control de la glucemia. Como enfermedad autoinmune, uno de los retos para la investigación biomédica es frenar la destrucción de las células β productoras de insulina. Este ataque, por parte de células del sistema inmunitario, se cronifica retroalimentándose de autoantígenos de células β remanentes y en regeneración. A pesar de la pérdida de producción de insulina, los pacientes mantienen cierta capacidad de reconstituir la masa celular β hasta muchos años después del inicio de la enfermedad, lo que amplía potencialmente el periodo de inmunointervención.

En las últimas décadas se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos basados en inmunoterapias con el objetivo de prevenir, estabilizar o incluso revertir la DT1. El objetivo de estos ensayos ha sido detener el ataque autoinmune y recuperar la tolerancia a las células β . Algunos ejemplos son la terapia con moléculas que inhiben la respuesta autoinmune con autoantígenos de célula β o con citocinas inmunorreguladoras. Muchas de estas estrategias han sido previamente ensayadas con éxito en el modelo experimental de la enfermedad, el ratón no obeso

diabético, que desarrolla diabetes autoinmune espontánea. Este modelo ha sido una herramienta útil para el estudio de la enfermedad y el desarrollo de inmunoterapias, generando un cuerpo de conocimiento difícil de obtener en la DT1 humana debido a su etapa asintomática y a la inaccesibilidad al órgano diana, esto es el páncreas. Los ensayos clínicos para determinar la capacidad preventiva o terapéutica de estas inmunoterapias han supuesto un gran esfuerzo científico y económico. Desgraciadamente, los resultados han sido decepcionantes debido, en parte, a las diferencias entre el modelo murino y la enfermedad humana¹. Ninguna inmunoterapia ha sido capaz de prevenir o revertir la enfermedad de manera permanente y algunas han causado importantes efectos secundarios². Sin embargo, de estos ensayos podemos extraer conclusiones sobre el impacto de las inmunoterapias en la evolución de la DT1.

A mitad de los años 80 se llevaron a cabo los primeros ensayos terapéuticos con ciclosporina, un fármaco inmunosupresor, que consiguió revertir la enfermedad, confirmando la naturaleza inmunomediada de la DT1. Sin embargo, el riesgo de nefrotoxicidad de la ciclosporina y su efecto en el sistema inmunitario no justificaban el tratamiento. Durante la última década, se han llevado a cabo ensayos clínicos con numerosas estrategias inmunomoduladoras³, destacando los anticuerpos monoclonales anti-CD3, dirigidos contra los linfocitos T. En ratones no obesos diabéticos esta inmunoterapia consiguió remitir totalmente la enfermedad, y las versiones humanizadas del anticuerpo (teplizumab y oteplizumab) que fueron ensayadas en pacientes con DT1 reciente preservaron la masa residual

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mvives@igtp.cat (M. Vives-Pi).

de células beta, pero con importantes efectos adversos⁴. Siguieron otras inmunoterapias basadas en el bloqueo de moléculas CD20 en linfocitos B (rituximab)⁵, el bloqueo de la señal coestimuladora mediante CTLA4 (abatacept)⁶, o la globulina antitumoral con factor estimulador de granulocitos⁷. En general, los resultados de estas inmunoterapias sistémicas han sido decepcionantes. Por otro lado, las terapias con autoantígenos, tales como la propia insulina en múltiples formas³, la descarboxilasa del ácido glutámico conjugada con aluminio⁸, o un péptido de la proteína de estrés térmico Hsp-60 (péptido DiaPep277)⁹ tampoco han revertido la enfermedad. Sin embargo, algunas estrategias han sido capaces de proteger la función y la masa de células β remanentes, lo que indica un freno al ataque autoinmune, aunque esta mejora no se traduzca en resultados clínicamente significativos a corto plazo. Está por determinar si estas inmunoterapias mejoran las complicaciones secundarias a largo plazo. Desde 1998, se han llevado a cabo también ensayos clínicos preventivos, utilizando nicotinamida, autoantígenos (decarboxilasa del ácido glutámico, insulina), anticuerpos (anti-CD3, abatacept, anti-IL1), citocinas³ o intervenciones dietéticas (dieta sin gluten o con caseína hidrolizada)¹⁰. No hay, de momento, datos concluyentes a favor de estas terapias, aunque algunas parecen retrasar el inicio de la enfermedad.

Al analizar los resultados de algunos de estos ensayos, no se han podido extraer datos concluyentes ya que se han detectado problemas en el diseño de los mismos, en la identificación de los efectos adversos y no se ha considerado la heterogeneidad de la enfermedad. En el futuro, deben evitarse estos errores, y al mismo tiempo, aplicar el conocimiento que se está generando con estudios multicéntricos y redes colaborativas en marcha, centrados en la etiología de la enfermedad. Estos estudios, *Network for Pancreatic Organ Donors with Diabetes* (nPOD), *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young* (TEDDY), *Diabetes and Autoimmunity Study in the Young* (DAISY), *All Babies in Southeast Sweden* (ABIS), *Persistent Virus Infection in Diabetes Network* (PevNet) y *Diabetes Virus Detection Study* (DiViD)¹¹, abordan diversas cuestiones y aplican tecnologías innovadoras, por lo que es de esperar que contribuyan a elucidar las causas de la DT1. Al mismo tiempo, se trabaja en definir mejores biomarcadores de destrucción y regeneración de célula β en sangre periférica. Ambos aspectos serán determinantes para mejorar la aplicación de estas terapias y su monitorización.

Actualmente se aborda el problema de la autoinmunidad contra las células β con nuevos enfoques de base inmunológica, la mayoría en fase experimental, aunque también hay algún ensayo clínico en marcha. En el reciente congreso de la *Immunology of Diabetes Society*, celebrado en Munich en abril de 2015 (www.ids2015.org), se ha presentado el ensayo de administración de dosis muy bajas de IL-2 como estrategia sistémica para expandir linfocitos T reguladores (www.diabil-2.eu)¹². En el ensayo se contemplan otras enfermedades autoinmunes como el lupus, la vasculitis autoinmune y la alopecia areata. En el caso de la DT1, se han incluido en el ensayo pacientes en edad pediátrica con menos de 2 meses de evolución de la enfermedad, que recibirán un año de tratamiento. Los resultados preliminares indican la expansión de linfocitos T reguladores Foxp3⁺,

tanto CD4⁺ como CD8⁺, así como niveles elevados de citocinas reguladoras en plasma. También se ha discutido la necesidad de tener en cuenta en estos nuevos ensayos, las variaciones estacionales de expresión de autoantígenos y genes de respuesta inmune, entre ellos la IL-2¹³.

La terapia celular es otro campo innovador y se lleva a cabo mediante leucaféresis y manipulación *in vitro* de las células del sistema inmunitario. Dado que las células dendríticas desempeñan un papel determinante en la regulación de la respuesta inmunitaria, una estrategia es obtener células dendríticas tolerogénicas autólogas capaces de llevar a cabo una presentación antigénica supresora, que inactiva a los linfocitos T autorreactivos. Estas células tienen capacidad preventiva y terapéutica en la diabetes experimental. En los últimos años se ha perfeccionado la obtención de células dendríticas humanas y se ha iniciado un ensayo clínico con este tipo de terapia¹⁴. Por otro lado, el reciente ensayo clínico en 12 pacientes pediátricos con células T reguladoras autólogas, expandidas *in vitro*, mostró un aumento de los niveles de péptido C y disminución de los requerimientos de insulina exógena, llegando en 2 pacientes a la remisión de la enfermedad¹⁵. Otro ensayo de terapia celular innovador es el llamado *Stem cell educator* que consiste en recircular la sangre de pacientes a través de un cultivo de células madre inmunomoduladoras de cordón umbilical y retornarlas a la circulación. El ensayo –en el que participa el Hospital Universitario Central de Asturias– muestra que el tratamiento es bien tolerado, genera linfocitos T reguladores y mejora la producción de péptido C, disminuyendo los requerimientos de insulina¹⁶. Los mecanismos de acción de estos tratamientos están en estudio.

La bioingeniería y la nanotecnología son otros campos en los que se trabaja para desarrollar inmunoterapias innovadoras que actualmente están en fase preclínica¹⁷. Destaca la ingeniería de unión de autoantígenos a eritrocitos, cuyo objetivo es inducir tolerancia específica por apoptosis y contribuir a frenar la autoinmunidad¹⁸. En cuanto a la nanotecnología, se aplica para modular la respuesta autoinmune trabajando a escala nanométrica, con ventajas a nivel de menores dosis de fármaco requeridas y la posibilidad de dirigir la nanopartícula hacia la célula de interés. Destacan las nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad con autoantígenos, que generan linfocitos T CD8⁺ reguladores y revierten la DT1 experimental¹⁹; también se han diseñado microesferas que contienen oligonucleótidos para bloquear la presentación antigénica²⁰; recientemente se han generado liposomas que simulan células β apoptóticas para frenar la autoinmunidad específica e inducir tolerancia mediante mimetismo molecular²¹.

Desde nuestro punto de vista, hay que invertir esfuerzos en la optimización de las inmunoterapias abordando la DT1 de una forma global, es decir, teniendo en cuenta la inflamación, la autoinmunidad específica y los intentos de regeneración β . Las terapias deben ser administradas por la vía óptima, sin comprometer el funcionamiento del sistema inmunitario y de manera combinada con estrategias regenerativas, teniendo en cuenta la heterogeneidad de la enfermedad humana. Al mismo tiempo, la identificación de sujetos prediabéticos mediante nuevos biomarcadores ayudaría a actuar en la fase preclínica, lo que sin duda

aumentaría las posibilidades de éxito. Los avances en esta área son lentos pero en los últimos años hemos observado tendencias de mejoras inmunometabólicas en algunos ensayos clínicos en fase 2. Elucidar las causas de la DT1 e identificar mejores biomarcadores de progresión de la enfermedad contribuirá sin duda a optimizar las inmunoterapias para ganar la batalla a la DT1.

Financiación

Los estudios correspondientes a las inmunoterapias innovadoras para la diabetes tipo 1 en el Institut de Recerca Germans Trias i Pujol incluidos en esta editorial han sido financiados por el Instituto de Salud Carlos III (FIS PI12/00195).

Conflicto de intereses

Las autoras declaran no tener ningún conflicto de intereses en la elaboración de esta revisión.

Bibliografía

1. Reed JC, Herold KC. Thinking bedside at the bench: The NOD mouse model of T1DM. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11:308–14.
2. Herold KC, Vignali DA, Cooke A, Bluestone JA. Type 1 diabetes: Translating mechanistic observations into effective clinical outcomes. *Nat Rev Immunol.* 2013;13:243–56.
3. Skyler JS. Prevention and reversal of type 1 diabetes—past challenges and future opportunities. *Diabetes Care.* 2015;38:997–1007.
4. Daifotis AG, Koenig S, Chatenoud L, Herold KC. Anti-CD3 clinical trials in type 1 diabetes mellitus. *Clin Immunol.* 2013;149:268–78.
5. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Bundy B, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, et al. B-lymphocyte depletion with rituximab and beta-cell function: Two-year results. *Diabetes Care.* 2014;37:453–9.
6. Orban T, Bundy B, Becker DJ, Dimeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Costimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: follow-up 1 year after cessation of treatment. *Diabetes Care.* 2014;37:1069–75.
7. Haller MJ, Gitelman SE, Gottlieb PA, Michels AW, Rosenthal SM, Shuster JJ, et al. Anti-thymocyte globulin/G-CSF treatment preserves beta cell function in patients with established type 1 diabetes. *J Clin Invest.* 2015;125:448–55.
8. Ludvigsson J, Krisky D, Casas R, Battelino T, Castano L, Greening J, et al. GAD65 antigen therapy in recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2012;366:433–42.
9. Raz I, Ziegler AG, Linn T, Schernthaner G, Bonnici F, Distiller LA, et al. Treatment of recent-onset type 1 diabetic patients with DiaPep277: results of a double-blind, placebo-controlled, randomized phase 3 trial. *Diabetes Care.* 2014;37:1392–400. Retracted in: *Diabetes Care* 2015; 38:178.
10. Hummel S, Pfluger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler AG. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: The BABYDIET study. *Diabetes Care.* 2011;34:1301–5.
11. Vehik K, Ajami NJ, Hadley D, Petrosino JF, Burkhardt BR. The changing landscape of type 1 diabetes: Recent developments and future frontiers. *Curr Diab Rep.* 2013;13:642–50.
12. Rosenzweig M, Churlaud G, Mallone R, Six A, Derian N, Chaara W, et al. Low-dose interleukin-2 fosters a dose-dependent regulatory T cell tuned milieu in T1D patients. *J Autoimmun.* 2015;58:48–58.
13. Dopico XC, Evangelou M, Ferreira RC, Guo H, Pekalski ML, Smyth DJ, et al. Widespread seasonal gene expression reveals annual differences in human immunity and physiology. *Nat Commun.* 2015;6:7000.
14. Giannoukakis N, Phillips B, Finegold D, Harnaha J, Trucco M. Phase I (safety) study of autologous tolerogenic dendritic cells in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2011;34:2026–32.
15. Marek-Trzonkowska N, Mysliwiec M, Dobyszuk A, Grabowska M, Derkowska I, Juscinska J, et al. Therapy of type 1 diabetes with CD4(+)/CD25(high)CD127-regulatory T cells prolongs survival of pancreatic islets—results of one year follow-up. *Clin Immunol.* 2014;153:23–30.
16. Zhao Y, Jiang Z, Zhao T, Ye M, Hu C, Yin Z, et al. Reversal of type 1 diabetes via islet beta cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Med.* 2012;10:3.
17. Gharagozloo M, Majewski S, Foldvari M. Therapeutic applications of nanomedicine in autoimmune diseases: From immunosuppression to tolerance induction. *Nanomedicine.* 2015;11:1003–18.
18. Kontos S, Kourtis IC, Dane KY, Hubbell JA. Engineering antigens for in situ erythrocyte binding induces T-cell deletion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:E60–8.
19. Tsai S, Shameli 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.
20. Engman C, Wen Y, Meng WS, Bottino R, Trucco M, Giannoukakis N. Generation of antigen-specific Foxp3+ regulatory T-cells in vivo following administration of diabetes-reversing tolerogenic microspheres does not require provision of antigen in the formulation. *Clin Immunol.* 2015.
21. Pujol-Autonell I, Serracant-Prat A, Cano-Sarabia M, Ampudia RM, Rodriguez-Fernandez S, Sanchez A, et al. Use of autoantigen-loaded phosphatidylserine-liposomes to arrest autoimmunity in type 1 diabetes. *PLoS One.* 2015;10:e0127057.