

## **Comunicación intercelular (crosstalk) para luchar contra la inflamación y la fibrosis: Diseño de nuevos fármacos biológicos para una nueva era.**

***Dr. Juan Pedro Lapuente, SCO del Laboratorio de Biología Molecular y Celular R4T del Hospital Universitario de Fuenlabrada***

La inflamación es la respuesta del sistema inmunitario de un organismo al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por cualquier tipo de agresión, que puede ser de naturaleza biológica, química o física. Esta respuesta inflamatoria debe ser autolimitada en el tiempo y en la intensidad, ya que, si no es así y no existe una perfecta coordinación entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo, se generará, como mínimo, un proceso fibrótico que conducirá a una pérdida porcentual de la función del tejido o tejidos afectados y, en casos graves, podría dar lugar a un síndrome inflamatorio sistémico severo con sistemas de retroalimentación positiva, lo que llevaría a una tormenta de citoquinas, que a su vez podría conducir a un fallo multiorgánico [1,2]. En el establecimiento, mantenimiento y terminación de dicha tormenta de citoquinas a nivel molecular, los mediadores solubles similares a las citoquinas (especialmente IL-1, IL-6, IL-18, etc...), los factores de crecimiento (TNF- $\alpha$ , etc...), las quimiocinas (MCP-1, MIP-1, etc...), moléculas relacionadas con las citocinas (MCP-1, MIP-1, etc...) y moléculas relacionadas con las citocinas (MCP-1, MIP-1, etc...) son esenciales para el establecimiento, el mantenimiento y la terminación de dicha tormenta de citocinas. ), moléculas relacionadas con el sistema purinérgico (ATP, ADP), que actuarán sobre receptores como los receptores tipo Toll (TLR), los receptores tipo NOD (NLR), los receptores de helicasa tipo RIG (RLR) y los receptores purinérgicos (P2X7).

Los medicamentos biológicos [3], como su nombre indica, se fabrican a partir de fuentes biológicas y pueden formularse de forma sintética, semisintética o incluso completamente natural. La definición de medicamentos biológicos abarca una gama muy heterogénea de medicamentos, como componentes sanguíneos completos o parciales, terapias celulares, tejidos, proteínas, vacunas y terapias génicas.

Dentro de este grupo, los denominados biológicos adquieren cada vez más protagonismo, ya que presentan claras ventajas competitivas frente a los medicamentos de terapia celular avanzada o los de terapia génica. Con respecto a los medicamentos de terapia celular avanzada, los biológicos no tienen células y presentan varias ventajas que les permiten tener menos riesgos, menos limitaciones y mayor eficacia que los tratamientos basados en el uso directo de células. Por ejemplo, los fármacos biológicos no se ven influenciados por aspectos como la edad o el sexo del donante, lo que sí ocurre con los fármacos de terapia celular avanzada [4,5,6,7,8], y los fármacos biológicos también conllevan menos riesgo al ser inyectados que los fármacos que contienen células en su formulación [9], lo que unido a aspectos relacionados con su fabricación y comercialización, como la amplia escalabilidad, capacidad de almacenamiento, fraccionamiento, concentración y la posibilidad de combinar materiales de diferentes donantes en su fabricación, los hacen mucho más interesantes [10,11]. Finalmente, otro aspecto a destacar como ventaja de los nuevos fármacos biológicos, frente a la terapia celular avanzada, es que el método de fabricación de estos nuevos fármacos biológicos puede dirigir la respuesta hacia un tipo celular o tejido concreto, consiguiendo una selectividad tisular difícil de obtener en terapia celular. No debemos olvidar que las células madre se organizan en el organismo en nichos

específicos característicos de cada tipo de tejido y están claramente influenciadas por el microambiente celular y extracelular, por lo que todo el secretoma que producen, tanto en forma soluble (citoquinas, etc.) como encapsulado en exosomas (miRNA, etc.), es selectivo de tejido [12,13].

Entre los fármacos biológicos, los más desarrollados en los últimos años son los anticuerpos monoclonales, glicoproteínas especializadas que forman parte del sistema inmunitario, producidas por los linfocitos B, con capacidad para reconocer moléculas específicas (antígenos). Los anticuerpos monoclonales se han convertido en herramientas clínicas y biotecnológicas esenciales y han demostrado su utilidad en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas, inmunológicas y neoplásicas, pero aunque estos anticuerpos monoclonales recombinantes se fabrican actualmente mediante la tecnología de bibliotecas de fagos con genes que codifican regiones variables de las inmunoglobulinas, estos anticuerpos no están exentos de problemas relacionados principalmente con las reacciones de inmunogenicidad, que en última instancia conducen a la variabilidad de su eficacia, haciéndolos ineficaces en un porcentaje significativo de los pacientes a los que se aplican [14,15]. Sin embargo, estas pérdidas de eficacia no sólo se deben a la existencia de reacciones de inmunogenicidad, incluyendo la generación de anticuerpos contra el fármaco, sino también al especial modo de acción que se deriva de su nombre, ya que los anticuerpos monoclonales actúan contra una única y específica diana. Es muy difícil explicar la existencia de una tormenta de citoquinas por la activación de un único receptor. Si así fuera, el tratamiento de la tormenta de citoquinas mediante un único anticuerpo monoclonal, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal contra la IL-1 $\beta$  o la IL-6, sería siempre eficaz, y sabemos que casi nunca es así, como ha demostrado recientemente la pandemia de SARS-COV-2. Además, aunque sólo se active uno de los receptores en primera instancia, la simple puesta en marcha de su cascada metabólica provocará la aparición de DAMPS (Self Damaging Molecular Patterns) que estimularán otros receptores. Si a esto añadimos que en la mayoría de las tormentas de citoquinas no vemos un único agente causante, sino un grupo de ellos, podemos entender que casi siempre hay una activación conjunta de varios de estos receptores, produciéndose fenómenos de agonismo, sinergia y antagonismo entre ellos [16]. Finalmente, si todo este tsunami inflamatorio no se controla a tiempo, aparecerá como mínimo la temida fibrosis con la consiguiente pérdida de función del tejido afectado, e incluso, en casos graves, reacciones autoinmunes.

Pero en la tormenta de citoquinas también debemos considerar la participación del sistema purinérgico [17,18,19]. El ATP extracelular o sus productos de degradación enzimática, como el ADP, el AMP y la adenosina, pueden estimular varios receptores de membrana [20]. La estimulación del receptor P2X7 por el ATP conduce a la activación del inflamasoma NLRP3 y, en consecuencia, de la caspasa 1, estimulando la secreción exagerada de IL-1 $\beta$  e IL-18 [21].

En base a lo anterior, es lógico pensar que para producir un efecto inmunomodulador antiinflamatorio global que actúe de forma sinérgica a todos los niveles, evitando vías de retroalimentación que prolonguen la inflamación en el tiempo con todas sus consecuencias negativas, se necesitan fármacos biológicos complejos que actúen a múltiples niveles, de forma sinérgica y coordinada, evitando las consecuencias negativas del bloqueo, o de la estimulación de una sola vía. Por todo ello, nuestro grupo de investigación del laboratorio de investigación de biología molecular y celular R4T del Hospital Universitario de Fuenlabrada, a diferencia de los tratamientos ensayados hasta la fecha para controlar las tormentas de citoquinas basados en el uso de

anticuerpos monoclonales utilizados solos o en combinación, propone como tratamiento una terapia biológica basada en el uso de medio condicionado alogénico derivado de macrófagos tipo M2 y enriquecido con MSCs. Las células madre mesenquimales, colocadas en co-cultivo con macrófagos, no sólo responden a los macrófagos y ajustan su secretoma en consecuencia, sino que también los macrófagos responden a los encuentros con estas células, creando un bucle de retroalimentación que contribuye a la regulación inmunológica [22]. Nuestra plataforma tecnológica para la fabricación de fármacos biológicos complejos, basada en el establecimiento de un crosstalk celular indirecto, nos permite generar diversos medios condicionados, donde están presentes todos los factores de crecimiento, citoquinas, quimioquinas, exosomas, miRNA, etc., que son producidos de forma natural por estas células, respetando su composición y relaciones pleiotrópicas naturales, con un perfil de citoquinas inmunomoduladoras que confieren una potente acción antiinflamatoria y antifibrótica, de forma totalmente selectiva para los tejidos.

Por todo ello, estamos firmemente convencidos de las ventajas de utilizar medios condicionados completos, fabricados mediante plataformas tecnológicas que permiten la diafonía intercelular entre dos o más tipos celulares específicos, frente a uno de sus componentes purificados, dado que su eficacia reside en el mecanismo sinérgico entre sus diferentes componentes [23], resultado de someter a las poblaciones celulares a un cultivo que, in vitro, intenta emular el microambiente inmunomodulador antiinflamatorio, antifibrótico y regenerativo que debería darse en condiciones ideales in vivo en el tejido enfermo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- [1] Zindel J, Kubes P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol.* 2020 Jan 24;15:493-518.
- [2] Medzhitov R. Origen y funciones fisiológicas de la inflamación. *Nature.* 2008 Jul 24;454(7203):428-35.
- [3] Rader RA. (Re)defining biopharmaceutical. *Nat Biotechnol.* 2008 Jul;26(7):743-51.
- [4] Efimenko A, Dzhoyashvili N, Kalinina N, Kochegura T, Akchurin R, Tkachuk V, et al. Las células estromales mesenquimales derivadas del tejido adiposo de pacientes de edad avanzada con enfermedad arterial coronaria mantienen las propiedades de las células estromales mesenquimales, pero presentan características de envejecimiento y tienen un potencial angiogénico deteriorado. *Stem Cells Translational Medicine.* 2014;3(1):32-41.
- [5] Efimenko A, Starostina E, Kalinina N, Stolzing A. Propiedades angiogénicas de las células madre mesenquimales derivadas del tejido adiposo envejecido tras el acondicionamiento hipóxico. *Journal of Translational Medicine.* 2011;9(1):10.
- [6] Mohd Ali N, Boo L, Yeap SK, Ky H, Satharasinghe DA, Liew WC, et al. Probable impacto de la edad y la hipoxia en la proliferación y el perfil de expresión de microARN de las células madre mesenquimales humanas derivadas de la médula ósea. *PeerJ [Internet].* 2016;14(4):e1536.

[7] Siegel G, Kluba T, Hermanutz-Klein U, Bieback K, Northoff H, Schäfer R. El fenotipo, la edad del donante y el sexo afectan a la función de las células estromales mesenquimales derivadas de la médula ósea humana. *BMC Medicine*. 2013;11(1):146.

[8] Pasanen I, Pietilä M, Lehtonen S, Lehtilahti E, Hakkarainen T, Blanco Sequeiros R, et al. Las células estromales mesenquimales de donantes femeninas potencian la proliferación celular del cáncer de mama in vitro. *Oncology*. 2015;88(4):214-225.

- [9] Herberts CA, Kwa MS, Hermsen HP. Factores de riesgo en el desarrollo de la terapia con células madre. *Journal of Translational Medicine*. 2011;9(1):29.
- [10] Nath SC, Harper L, Rancourt DE. Fabricación de terapias celulares en biorreactores de suspensión agitada: Thoughts for cGMP Compliance. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020 Nov 26;8:599674.
- [11] Maitra B, Szekely E, Gjini K, Laughlin MJ, Dennis J, Haynesworth SE, Koç ON. Las células madre mesenquimales humanas apoyan a las células madre hematopoyéticas de donantes no emparentados y suprimen la activación de las células T. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Mar;33(6):597-604.
- [12] Baglio SR, Rooijers K, Koppers-Lalic D, Verweij FJ, Pérez Lanzón M, Zini N, et al. Las células madre mesenquimales humanas de médula ósea y adiposas secretan exosomas enriquecidos en especies distintivas de miRNA y tRNA. *Stem Cell Research & Therapy*. 2015;6(1):127.
- [13] Strioga M, Viswanathan S, Darinkas A, Slaby O, Michalek J. ¿Igual o no igual? Comparación de las células madre y estromales mesenquimales derivadas del tejido adiposo frente a las derivadas de la médula ósea. *Stem Cells and Development*. 2012;21(14):2724-2752.
- [14] López-Ibáñez M, Marín-Jiménez I. Niveles de fármaco y anticuerpos antifármaco en el manejo clínico del paciente con enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol*. 2016 Abr;39(4):265-72. Español.
- [15] Stidham RW, Lee TC, Higgins PD, Deshpande AR, Sussman DA, Singal AG, Elmunzer BJ, Saini SD, Vijan S, Waljee AK. Revisión sistemática con meta-análisis en red: la eficacia de los agentes anti-TNF para el tratamiento de la enfermedad de Crohn. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014 Jun;39(12):1349-62.
- [16] Root-Bernstein, R. Innate Receptor Activation Patterns Involving TLR and NLR Synergisms in COVID-19, ALI/ARDS and Sepsis Cytokine Storms: A Review and Model Making Novel Predictions and Therapeutic Suggestions. *Int. J. Mol. Sci*. 2021, 22, 2108.
- [17] Simões JLB, Bagatini MD. Purinergic Signaling of ATP in COVID-19 Associated Guillain-Barré Syndrome. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2021 Mar;16(1):48-58.
- [18] Franciosi MLM, Lima MDM, Schetinger MRC, Cardoso AM. Posible papel de la señalización purinérgica en COVID-19. *Mol Cell Biochem*. 2021 Aug;476(8):2891- 2898.
- [19] Simões JLB, de Araújo JB, Bagatini MD. Terapia Antiinflamatoria por Modulación Colinérgica y Purinérgica en la Esclerosis Múltiple Asociada a la Infección por SARS-CoV-2. *Mol Neurobiol*. 2021 Oct;58(10):5090-5111.

[20] Abbracchio, M.P.; Burnstock, G. Purinoceptores: ¿Existen familias de purinoceptores P2X y P2Y? *Pharmacol. Ther.* 1994, 64, 445-475.

[21] Ren W, Rubini P, Tang Y, Engel T, Illes P. Inherent P2X7 Receptors Regulate Macrophage Functions during Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021 Dic 26;23(1):232.

[22] Carty F, Mahon BP, English K. La influencia de los macrófagos en la terapia con células estromales mesenquimales: ¿agentes pasivos o agresivos? *Clin Exp Immunol.* (2017) Abr;188(1):1-11.

[23] Laggner M, Gugereil A, Bachmann C, Hofbauer H, Vorstandlechner V, Seibold M, Gouya Lechner G, Peterbauer A, Madlener S, Demyanets S, Sorgenfrey D, Ostler T, Erb M, Mildner M, Ankersmit HJ. Reproducibilidad de la producción conforme a las GMP de secretomas derivados de células mononucleares de sangre periférica estresadas terapéuticamente, una nueva clase de productos medicinales biológicos. *Stem Cell Res Ther.* (2020) Jan 3;11(1):9.