

Nanopartículas Poliméricas conjugadas con lectinas para la encapsulación de inhibidores selectivos de las Janus quinasas dirigidas hacia monocitos para el tratamiento alternativo de lupus eritematoso sistémico

Karen Álvarez¹, Paula Losada¹, Ricardo Pineda²,
Esneyder Ruiz-Agudelo³, Luis Fernando Giraldo³,
Gloria Vásquez^{1,4}, Mauricio Rojas^{1,5}

RESUMEN

Presentación

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica de etiología desconocida, que afecta a más de 5 millones de individuos en el mundo y predomina en mujeres en edad reproductiva. Se caracteriza por la producción de anticuerpos contra antígenos propios como el DNA, proteínas nucleares y componentes citoplasmáticos. Estos autoanticuerpos, pueden depositarse en diferentes órganos, entre los que se incluyen: la piel, sistema nervioso, y riñón; resultando en una respuesta inflamatoria crónica local, con destrucción severa del tejido en la que los monocitos juegan un papel fundamental. Alteraciones en el fenotipo, función y estado de activación de los monocitos, en modelos animales y pacientes con enfermedades autoinmunes, evidencian la importancia de estas células en la inmunopatogénesis de estas enfermedades. Clásicamente, se han descrito 3 poblaciones de monocitos: clásicos (CD14++CD16-), intermedios (CD14+CD16+) y no clásicos (CD14+CD16++).

Estudios previos evidencian una disminución de los monocitos no clásicos en circulación en pacientes con LES y su acumulación en lesiones glomerulares de pacientes

¹ Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

² ARTMEDICA IPS, Medellín-Colombia.

³ Laboratorio de Investigación en Polímeros, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

⁴ Sección de Reumatología, Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colombia.

⁵ Unidad de citometría de flujo, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

Correspondencia: Karen Álvarez; dayanna.alvarez@udea.edu.co

Financiación: Proyecto financiado por Colciencias 111584467267, número de contrato: 925-2019

y en modelos murinos de Nefritis lúpica. Una fracción de los monocitos no clásicos que expresan el marcador 6-sulfo LacNAc (SlanMo), variante Orto-glicosilada del ligando 1 de glicoproteína de selectina P (PSGL-1), es la que se ha detectado en las lesiones glomerulares de los pacientes con nefritis lúpica produciendo localmente TNF- α . Lo que sugiere que los monocitos no clásicos, y más específicamente los SlanMo, están involucrados en procesos inflamatorios crónicos como la nefritis lúpica, por lo que podrían ser un blanco terapéutico interesante para el tratamiento de esta enfermedad.

Inhibidores de las Janus quinasas (Jakinibs) han sido eficaces en el tratamiento del lupus en modelos murinos, también se ha aprobado su uso en humanos; sin embargo, dada la ubicuidad de las JAK, es necesario el desarrollo de estrategias más selectivas que permitan dirigir estos compuestos hacia las células que están mediando la respuesta inflamatoria crónica, sin comprometer la función de otras células del sistema inmune. Recientemente, se ha prestado especial atención a las nanopartículas (NP) como medios de encapsulación y entrega de medicamentos a una población celular, mediante diferentes tipos de recubrimiento. Por consiguiente, hemos venido desarrollando NP de encapsulación conteniendo Jakinibs capaces de interactuar de manera específica con los SlanMo, lo anterior, mediante el uso de la lectina de germen de trigo (WGA) capaz de unir al 6-Sulfo-LacNAc, motivo que es exclusivo de los SlanMo.

Con el fin de establecer si, como se ha reportado para los monocitos no clásicos, hay alteraciones en el número de SlanMo circulantes en pacientes con LES, se tomaron muestras de sangre periférica de pacientes (n=12) y controles sanos (n=18) y mediante citometría de flujo se evaluaron las diferentes subpoblaciones, basándonos en la expresión de los marcadores de superficie CD14, CD16, HLA-DR y Slan. La inhibición de la vía JAK-STAT fue evaluada en SlanMos enriquecidos mediante columnas magnéticas antiM-DC8, pre-tratados con Jakinibs: Itacitinib o Baricitinib y estimulados con IFN- γ . La expresión de marcadores de superficie (HLA-DR, CD69 y CD64), la fosforilación de STAT-1 y la acumulación de TNF- α , fueron evaluadas por citometría de flujo. Con el fin de establecer la especificidad de diferentes tipos de NP por los monocitos y más específicamente por los SlanMo, se evaluó mediante citometría de flujo la unión-internalización por diferentes subpoblaciones de

leucocitos de las NP de ácido poli-(láctico-co-glicólico) (PLGA) desnudas o funcionalizadas con Galactosamina (PLGA-GA) o con WGA (PLGA-WGA).

Los pacientes con LES presentaron una reducción, aunque no estadísticamente significativa, en el número de monocitos no clásicos y SlanMo circulantes en comparación con los controles sanos, lo que podría deberse, como se ha reportado en la literatura, al reclutamiento de estas células en las lesiones inflamatorias. El Itacitinib tuvo el mayor efecto inhibitorio sobre la vía JAK-STAT en los SlanMo, antagonizando la fosforilación de STAT-1, la expresión del HLA-DR y CD64, y la acumulación de TNF- α en respuesta al IFN- γ ; lo que demuestra su potencial papel en la regulación de la función inflamatoria de estas células.

Por lo anterior, se pretende encapsular este compuesto en NP direccionadas a SlanMo como potencial herramienta terapéutica en pacientes con LES. Los resultados preliminares de los ensayos de unión evidenciaron que las NP PLGA-WGA y NP PLGA-GA (n=5) son específicamente unidas por los monocitos en comparación con otras poblaciones de leucocitos, sugiriendo que estas NP podrían ser utilizadas para encapsular el Itacitinib e inhibir específicamente la vía JAK-STAT en monocitos y probablemente más específicamente en SlanMos.

Palabras clave: Lupus, nanopartículas, monocitos, JAK-STAT.

Key words: Lupus, nanoparticles, Monocytes, JAK-STAT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weckerle CE, Niewold TB. The unexplained female predominance of systemic lupus erythematosus: clues from genetic and cytokine studies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011;40(1):42-9.
2. Nielsen CT. Circulating microparticles in systemic Lupus Erythematosus. *Dan Med J*. 2012;59(11):B4548.
3. Liu Z, Davidson A. Taming lupus-a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med*. 2012;18(6):871-82.
4. Gottschalk TA, Tsantikos E, Hibbs ML. Pathogenic Inflammation and Its Therapeutic Targeting in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 2015;6:550.
5. Ma WT, Gao F, Gu K, Chen DK. The Role of Monocytes and Macrophages in Autoimmune Diseases: A Comprehensive Review. *Front Immunol*. 2019;10:1140.
6. Burbano C, Vasquez G, Rojas M. Modulatory effects of CD14+CD16++ monocytes on CD14++CD16- monocytes: a possible explanation of monocyte alterations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(12):3371-81.
7. Wu Z, Zhang S, Zhao L, Fei Y, Wang L, Li J, et al. Upregulation of CD16- monocyte subsets in systemic lupus erythematosus patients. *Clin Rheumatol*. 2017;36(10):2281-7.
8. Yoshimoto S, Nakatani K, Iwano M, Asai O, Samejima K, Sakan H, et al. Elevated levels of fractalkine expression and accumulation of CD16+ monocytes in glomeruli of active lupus nephritis. *Am J Kidney Dis*. 2007;50(1):47-58.
9. Nakatani K, Yoshimoto S, Iwano M, Asai O, Samejima K, Sakan H, et al. Fractalkine expression and CD16+ monocyte accumulation in glomerular lesions: association with their severity and diversity in lupus models. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;299(1):F207-16.
10. Hofer TP, Zawada AM, Frankenberger M, Skokann K, Satz AA, Gesierich W, et al. slan-defined subsets of CD16-positive monocytes: impact of granulomatous inflammation and M-CSF receptor mutation. *Blood*. 2015;126(24):2601-10.
11. Olaru F, Döbel T, Lonsdorf AS, Oehrl S, Maas M, Enk AH, et al. Intracapillary immune complexes recruit and activate slan-expressing CD16+ monocytes in human lupus nephritis. *JCI Insight*. 2018;3(11).
12. Wang S, Yang N, Zhang L, Huang B, Tan H, Liang Y, et al. Jak/STAT signaling is involved in the inflammatory infiltration of the kidneys in MRL/lpr mice. *Lupus*. 2010;19(10):1171-80.
13. Lu LD, Stump KL, Wallace NH, Dobrzanski P, Serdikoff C, Gingrich DE, et al. Depletion of autoreactive plasma cells and treatment of lupus nephritis in mice using CEP-33779, a novel, orally active, selective inhibitor of JAK2. *J Immunol*. 2011;187(7):3840-53.
14. Klaeschen AS, Wolf D, Brossart P, Bieber T, Wenzel J. JAK inhibitor ruxolitinib inhibits the expression of cytokines characteristic of cutaneous lupus erythematosus. *Exp Dermatol*. 2017;26(8):728-30.
15. Mucke J, Schneider M. Baricitinib for systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2018;392(10143):190-2.