

Universidad Juan Agustín Maza  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Carreras: Farmacia y Bioquímica

# *Avances en la aplicación de terapia génica para la cura de la diabetes mellitus tipo 1*



**Docentes:** Quintero, Cristian  
Pelegrina, Laura

**Estudiantes:** Chaumeil, Julián- Mat. 8322  
Giana, Tomás- Mat. 8356  
López, Sol- Mat. 8378

**Curso:** 4<sup>to</sup> año

**Fecha:** 05/11/2021

## Índice

Resumen.....	3
Introducción.....	3
Desarrollo de la aplicación de la terapia génica en diabetes <i>mellitus</i> tipo 1 .....	4
Vectores utilizados .....	5
Tipos de terapia génica aplicadas.....	5
Terapia <i>in vivo</i> .....	5
Terapia <i>ex vivo</i> .....	5
Terapia <i>in situ</i> .....	6
Otros enfoques .....	6
Estudios en animales .....	7
Conclusión y futuras perspectivas.....	7
Bibliografía .....	8

## Avances en la aplicación de terapia génica para la cura de la diabetes mellitus tipo 1

### Resumen

Un gran porcentaje de la población mundial presenta diabetes *mellitus* tipo 1, y lamentablemente, hasta el momento, es una enfermedad que no posee cura. Se basa en un déficit de insulina debido a la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas. El tratamiento crónico consiste en la inyección subcutánea de insulina, lo que resulta insidioso para las personas afectadas. Por estos motivos es de potencial relevancia la búsqueda de una estrategia que permita, en el óptimo caso, la cura de la enfermedad. Actualmente, una de las opciones más atractivas y prometedoras es la aplicación de la terapia génica, utilizando como vectores los virus Adenoasociados en la mayoría de los casos. Entre las vías más importantes se encuentra la terapia génica *in vivo*, que consiste en aplicar el vector con el gen de interés por vía sistémica. Mediante esta técnica se han realizado estudios en perros, que han demostrado una buena eficacia cuando se aplica un vector dual que codifica para genes de insulina y glucoquinasa, logrando curar la diabetes en estos animales. A pesar de dichos progresos, aún se deben evaluar los efectos a largo plazo y en humanos, debido a su cuestionable especificidad. Otra opción es la terapia génica *ex vivo*, cuyo objetivo se basa en explantar las células del paciente, transfectarlas con el vector apropiado y luego reimplantarlas. Se han aislado células  $\beta$  pancreáticas, que son las afectadas en esta patología, pero no se han obtenido buenos resultados. Se ha puesto en evidencia que los hepatocitos podrían manipularse *in vitro* y lograr obtener la cantidad de insulina necesaria. En el presente trabajo se exponen los avances que destacan a la terapia génica como una opción esperanzadora y viable para la cura de la diabetes *mellitus* tipo 1, las limitaciones y el estado actual de algunas investigaciones.

**Palabras clave:** Virus Adenoasociados, Células  $\beta$  Pancreáticas, Insulina

### Introducción

La diabetes *mellitus* tipo 1 es definida por la OPS/OMS (1) como una enfermedad crónica autoinmune de causas desconocidas, que está relacionada con la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas y tiene como consecuencia un déficit absoluto de insulina endógena.

Es una patología de alta prevalencia y elevada necesidad clínica. Según los datos estadísticos de la *International Diabetes Federation* (2) a nivel mundial en el año 2021, 537 millones de adultos entre 20 y 79 años presentan esta patología; y se estima que para el año 2045 se incremente la incidencia y las personas afectadas sean aproximadamente 784 millones, un dato realmente alarmante.

Por el momento no existe ninguna cura para la diabetes, sino que hay un tratamiento terapéutico de por vida que implica la administración subcutánea de insulina,

acompañado de una dieta controlada en carbohidratos, el ejercicio físico y el control regular de la glucemia. Tal como describe Branco (3) este tratamiento, si bien promueve la regulación de los niveles de glucosa, puede presentar complicaciones a nivel vascular en caso de que el control de la glucemia sea insuficiente, provocando riesgos asociados a una situación de hipoglucemia. Además, el hecho de aplicar diariamente insulina mediante inyecciones es insidioso para la persona. Es por este motivo que se torna potencialmente interesante y necesaria la investigación y desarrollo de un tratamiento alternativo, o, mucho más atractivo, de un procedimiento que haga posible la cura de la enfermedad. En este contexto, surge la pregunta: ¿es viable y prometedora la aplicación de la terapia génica como una herramienta para la cura de la diabetes *mellitus* tipo 1?

La terapia génica consiste en un mecanismo que implica la introducción de material genético para producir un efecto terapéutico. La intención es modificar el genoma de las células, en este caso, de las células  $\beta$  pancreáticas, para que produzcan cantidades adecuadas del producto de interés, que es la insulina. Se debe tener en cuenta que esta terapia debe realizarse sobre células somáticas y no sobre células germinales, ya que es éticamente inaceptable.

## Desarrollo de la aplicación de la terapia génica en diabetes *mellitus* tipo 1

Para el progreso de la terapia génica es de vital importancia el conocimiento del defecto involucrado a nivel molecular en relación a la diabetes, además de tener un sustento científico que justifique la misma intervención. Estos conocimientos son de utilidad para seleccionar el gen terapéutico, y para escoger el vector que vamos a utilizar para transferir ese mismo gen de interés a la célula diana. La introducción del gen de interés es importante y está relacionada con la accesibilidad del tejido en el que se desee introducir, en este caso, las células  $\beta$  del páncreas. Por último se debe tener en cuenta la utilización y estudio de un modelo animal para verificar tanto la seguridad como la eficiencia del tratamiento a partir de la terapia génica.

Tal como expresa Torrades (4), los estudios sobre terapia génica que se aproximan a la aplicación para la diabetes *mellitus* pueden orientarse hacia la regeneración de las células  $\beta$  pancreáticas, la modulación de la respuesta metabólica de glucosa e insulina; o la prevención de la respuesta autoinmune impidiendo la destrucción de estas células.

## Vectores utilizados

Para llevar a cabo el tratamiento se administra el material genético, para que posteriormente se produzca una expresión de los genes de interés. Se pueden utilizar vectores virales como no virales. Los vectores virales que se emplean tienen suprimida su capacidad infectiva y poseen el gen de interés integrado en su genoma. Por otro lado, los vectores no virales se basan en ADN plasmídico, productos de PCR u oligonucleótidos que pueden estar "desnudos" o envueltos en liposomas. En el caso de la terapia génica desarrollada, según Ayuso et al. (5) los vectores más utilizados son los virus Adenoasociados. Estos tienen como ventaja una baja respuesta inmune, una expresión génica a largo plazo y un amplio tropismo, que puede considerarse como una dificultad debido a la dudosa especificidad. También presentan limitaciones, como la capacidad reducida de albergar el gen de interés y la dificultad para obtener elevadas cantidades del vector. Otros vectores virales que pueden ser utilizados son los Adenovirus, Retrovirus y Lentivirus; estos a su favor poseen una mayor capacidad de clonación que los Adenoasociados, pero presentan ciertas desventajas que favorecen la utilización de los anteriores. No se ha registrado información sobre la utilización de vectores no virales; que serían un interesante foco de estudio ya que carecen de respuesta inmunológica, siendo más seguros; pero a la vez presentan limitaciones referidas a su baja capacidad de transfectar células y a que no se integran en el genoma.

## Tipos de terapia génica aplicadas

Existen distintas vías de aplicación de la terapia génica para la intervención en la diabetes *mellitus*, cada una con ventajas y desventajas que las hacen más prometedoras para una futura utilización en la clínica. Ellas son la terapia génica *in vivo*, *ex vivo* e *in situ*.

### Terapia *in vivo*

Con este tipo de terapia se puede lograr desde la prevención hasta la curación definitiva de la enfermedad. Las aplicaciones se realizan por vía sistémica, por lo tanto se incorpora el ADN con la corrección necesaria directamente sobre el paciente, pero presenta dificultades que retrasan su desarrollo debido a infortunios en la especificidad del tejido al cual se introduce.

### Terapia *ex vivo*

Esta clase de terapia es la más investigada y desarrollada en el contexto estudiado. Se deben extraer las células del paciente, es decir, explantarse, transfectarse luego

con el vector que contiene el gen de interés y posteriormente reimplantarse nuevamente en la persona. Para ello, se requiere aislar un tipo celular que sea estable. La mejor y más lógica opción sería poder explantar células  $\beta$  pancreáticas maduras, para poder sustituir a las no funcionales o destruidas, que son las afectadas en esta enfermedad. Sin embargo, como expresa Torrades (4) lamentablemente este procedimiento no es posible debido a que se obtienen en muy bajo nivel y además tienen una capacidad replicativa y proliferativa limitadas. Otra alternativa viable sería la posibilidad de utilizar células madre, que tienen la capacidad de dividirse, diferenciarse y autorrenovarse. Desafortunadamente, algunos estudios (6) han demostrado que tales células no pueden sintetizar la cantidad de insulina necesaria. Debido a esto, explorando los distintos tipos celulares, se ha observado que las células con más expectativa e interés para poder generar insulina son los hepatocitos; que pueden manipularse *in vitro* para intentar producir esta enzima en las concentraciones necesarias.

### Terapia *in situ*

Se basa en una terapia muy prometedora e importante, porque como describen Mansego et al. (7) estaría destinada a la regeneración de las células  $\beta$  pancreáticas. El objetivo es regenerar los islotes pancreáticos ausentes o destruidos mediante la formación de nuevas células, o replicando células remanentes. Supone un reto para la medicina, ya que se debe llegar al páncreas e insertar los vectores; pero en caso de ser exitosa también supondría la cura de la enfermedad.

### Otros enfoques

Ayuso et al. (5) describen que se están estudiando terapias con enfoques diferentes, que si bien pueden ser útiles, hasta el momento no han reflejado mejores resultados que las vías descritas anteriormente, y además resultan menos viables para su aplicación futura. Una de ellas es la terapia génica preventiva, que tiene como objetivo reducir la respuesta inmune contra las células  $\beta$  pancreáticas. Aunque es prometedora, ha sido dificultoso el intento de aplicación en animales y mucho más en la clínica. Por otra parte, la terapia génica sustitutiva tiene como finalidad incrementar la captación de glucosa por parte de los tejidos periféricos. Finalmente, la terapia génica para el tratamiento de las complicaciones secundarias posee el propósito de contrarrestar la nefropatía, neuropatía y retinopatía diabéticas.

## Estudios en animales

Hasta el momento, se han llevado a cabo estudios en ratones y en perros. En el presente trabajo, consideramos únicamente los progresos que se han concretado en perros, ya que presentan muchas más similitudes en el tamaño, vascularización y estructura del páncreas con los humanos. Un estudio del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Barcelona (8) experimentó con la aplicación de terapia génica *in vivo* mediante la introducción de dos vectores de virus Adenoasociados en perros diabéticos. Uno de ellos tenía incorporado un gen codificante para la insulina y el otro para la glucoquinasa, una enzima también necesaria en la regulación de la homeostasis de la glucosa en el organismo. Esto condujo a una cura de la enfermedad en dichos animales. Posteriormente, se desarrolló un vector dual, utilizando un virus Adenoasociado que tenía insertados los genes tanto de la insulina como de la glucoquinasa. La administración de este vector permitió a las células transfectadas expresar las dos enzimas que componen el “sensor de glucosa” en el organismo; y mostró una mayor eficacia que los vectores individuales. Este vector dual permitiría reducir la dosis viral, y además facilitaría la producción y aplicación futura. A pesar de esto, aún se encuentra distante a la utilidad clínica, ya que se requiere de cierta fiabilidad a largo plazo en base a los experimentos realizados en los modelos animales.

## Conclusión y futuras perspectivas

La diabetes *mellitus* es una patología que afecta a un considerable porcentaje de la población y con el paso del tiempo se espera que este número aumente, al no contar con un tratamiento ni cura efectivos impacta en diversos factores a las personas que conviven con esta enfermedad.

Afortunadamente, como respuesta al interrogante planteado en el comienzo, la terapia génica resulta ser una herramienta esperanzadora y viable hacia la cura de la diabetes *mellitus* tipo 1, aunque aún debe avanzar en las etapas de investigación y debe continuar con un arduo camino de aplicaciones en modelos animales para poder confirmar su eficacia a largo plazo, y poder llegar a utilizarse en la clínica; caso que aún tiene una perspectiva lejana pero promisorio. Además, los avances reflejan que en un futuro, aparte de lograr la cura de la enfermedad mediante la biotecnología, restableciendo los niveles de insulina ausentes, también sería posible destinar terapias génicas para la prevención de esta afección, logrando indirectamente contrarrestar las diversas complicaciones secundarias que los pacientes con diabetes *mellitus* presentan.

Debido a que la biotecnología crece a pasos agigantados, se espera que se logre la cura de la enfermedad desarrollando críticamente alguno de los enfoques de terapia génica hasta el momento planteados, y que además surjan nuevas aproximaciones de terapia génica para la diabetes *mellitus*.

## Bibliografía

1. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. OPS/OMS [Internet]. 2021 [consultado el 1 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>
2. International Diabetes Federation 10th ed. IDF Diabetes Atlas [Internet]. Bruselas, Bélgica. 2021 [consultado el 1 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://diabetesatlas.org/en/resources/>
3. Branco MSAC. Terapia Génica na Diabetes Mellitus tipo 1 [Internet]. Universidade de Coimbra; 2019 [consultado el 1 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://eg.uc.pt/handle/10316/88304>
4. Torrades S. Terapia génica para curar la diabetes. *Offarm* [Internet]. 2003 [consultado el 1 de noviembre de 2021];22(4):116–24. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-terapia-genica-curar-diabetes-13046057>
5. Ayuso E, Mann C, Anguela X, Bosch F. Aproximaciones de terapia génica para la diabetes tipo 1. *Av diabetol* [Internet]. 2010 [consultado el 1 de noviembre de 2021];26(1):6–12. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-avances-diabetologia-326-articulo-aproximaciones-terapia-genica-diabetes-tipo-S1134323010610022>
6. Chellappan DK, Sivam NS, Teoh KX, Leong WP, Fui TZ, Chooi K, et al. Gene therapy and type 1 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018 [consultado el 1 de noviembre de 2021];108:1188–200. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332218345001>
7. Mansego ML, Abellán R, Chaves FJ. Tipos de mutaciones y polimorfismos. *Av diabetol* [Internet]. 2007 [consultado el 1 de noviembre de 2021];23(6): 425-431. Disponible en: <http://www.avancesendiabetologia.org/gestor/upload/revistaAvances/23-6.pdf#page=33>
8. Jaén Sitges ML. Terapia génica para la diabetes tipo I basada en la administración intramuscular de AAV1 insulina-glucoquinasa [Internet]. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular; 2017 [consultado el 1 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/458687#page=1>