



Fundació
La Marató de TV3

22è SIMPOSIUM
Diabetis i Obesitat



IDENTIFICACIÓ DE MEDIADORS MOLECULARS DE LA SENYALITZACIÓ DE L'INTESTÍ VERS LA SENSIBILITZACIÓ A LA INSULINA I EL *BROWNING* DEL TEIXIT ADIPÓS: PAPER D'LBP I FGF15/19

Marta Giralt Oms

Facultat de Biologia - Universitat de Barcelona

José María Moreno Navarrete

Hospital Dr. Josep Trueta - IDIBGi Institut d'Investigació Biomèdica de Girona

1. Resum

L'objectiu d'aquest estudi és investigar la relació entre els trastorns metabòlics associats a l'obesitat, principalment la resistència a la insulina i la secreció intestinal del factor de creixement fibroblàstic 15/19 (FGF15/19) i de la proteïna d'unió a lipopolisacàrid (LBP), i determinar l'impacte d'FGF15/19 i LBP en la sensibilitat a la insulina, l'homeòstasi metabòlica i la «marronització» o «embruniment» del teixit adipós (adquisició de fenotip beix o *browning*), com a sistemes potencials d'intervenció terapèutica.

Els estudis realitzats en humans van indicar que els nivells circulants d'FGF19 disminueixen en pacients amb obesitat mòrbida, mentre que els nivells d'LBP augmenten, especialment en els que presenten malaltia del fetge gras no alcohòlic (NAFLD). Utilitzant el model de ratolí deficient en FGF15 i també experiments de guany de funció basats en la sobreexpressió d'FGF15 de ratolí o FGF19 humana, vam identificar FGF15/19 com un mecanisme molecular que facilita la comunicació des de l'intestí cap al teixit adipós, i així regula el procés adaptatiu de *browning* del teixit adipós blanc. També hem avaluat l'ús potencial d'LBP com a diana terapèutica. El silenciament específic del gen *LBP* al teixit adipós va evitar l'acumulació de greixos associada a l'obesitat i va induir el *browning* del teixit adipós. A més, el silenciament específic del gen d'LBP al fetge mitjançant siRNA administrat amb nanopartícules lipídiques va reduir l'esteatosi hepàtica i va millorar la resistència a la insulina en models de ratolins amb obesitat induïda per la dieta. En conjunt, els resultats actuals confirmen el silenciament teixit-específic d'LBP com a estratègia terapèutica en la prevenció i la teràpia davant l'esteatosi hepàtica i les alteracions adiposes associades a l'obesitat. Així mateix, la inducció del *browning* del teixit adipós mediat per FGF15/19 emergeix com a procés originat a l'intestí que contribueix a la millora de la salut metabòlica promovent la despesa energètica i protegint contra la hiperglucèmia i la hiperlipèmia.

2. Resultats

FGF15 (i el seu ortòleg humà, FGF19) és una enterocina (una hormona secretada per l'intestí), i el fetge ha estat assenyalat com el principal teixit diana. Hem descrit una

associació negativa entre els nivells circulants d'FGF19 i els nivells d'IMC, adipositat, insulina i HOMA-IR en una cohort de pacients amb obesitat mòrbida. En canvi, els nivells plasmàtics d'FGF19 es correlacionen positivament amb l'expressió d'UCP1 (el marcador específic de l'activitat termogènica del teixit adipós marró i del *browning*) al teixit adipós subcutani humà. Aquestes dades ens van portar a analitzar models preclínic (ratolí) per estudiar el paper d'FGF15/19 com a potencial element mediador d'una senyalització originària de l'intestí per controlar el *browning* dels teixits adiposos. L'augment experimental d'FGF15 o d'FGF19 va induir en els ratolins el *browning* del teixit adipós, incloent la inducció dels nivells de proteïna UCP1. Els ratolins deficients en FGF15 (FGF15-KO) van mostrar un marcat impediment en el procés de *browning* del teixit adipós blanc i una lleu reducció dels paràmetres indicatius de l'activitat del teixit adipós marró en resposta a l'activació termogènica induïda pel fred ambiental. De manera concomitant, s'observaven signes d'alteració del metabolisme sistèmic, com ara una reducció de la tolerància a la glucosa i una alteració de la sensibilització a la insulina induïda pel fred. El *browning* del teixit adipós blanc també es va veure afectat en ratolins amb nivells reduïts de β -klotho (KLB-KO i KLB-HZ), el coreceptor obligatori per vehicular l'acció d'FGF15/19 (i FGF21) sobre els teixits diana. En conclusió, FGF15/19 és un mecanisme molecular que facilita la comunicació des de l'intestí als teixits adiposos, i promou així la despesa energètica i millora la salut metabòlica. Atès l'origen intestinal d'FGF15/19, una estratègia terapèutica prometedora per explorar seran les intervencions dietètiques amb potencials efectes beneficiosos sobre l'obesitat o la diabetis.

Els nostres estudis transcriptòmics de biòpsies de jejú humà van mostrar que l'expressió de gens relacionats amb la resposta immunitària, i en particular la resposta antiviral, s'associava significativament amb la sensibilitat a la insulina i els nivells basals de glucosa en sang. L'associació negativa observada entre la massa adiposa i l'expressió de gens relacionats amb el catabolisme dels àcids grassos al jejú pot indicar que la inhibició d'aquests gens podria tenir un efecte obesogènic, ja que pot promoure l'acumulació de greix corporal. L'expressió al jejú de lisozim (un enzim marcador de la funcionalitat de les cèl·lules de Paneth) es correlaciona significativament (i negativament) amb l'edat, fet que suggereix que l'envelliment pot reduir la funcionalitat de les cèl·lules de Paneth. No obstant això, no es va trobar cap associació amb altres paràmetres metabòlics. En canvi, els nivells sèrics/plasmàtics i al teixit adipós de lisozim es van associar significativament amb l'obesitat i la resistència a la

insulina. A més, els nostres estudis preclínic van demostrar que el silenciament de lisozim al teixit adipós reduïa l'augment de pes i millorava la fisiologia del teixit adipós en ratolins amb obesitat genètica o també induïda per la dieta.

La proteïna d'unió a lipopolisacàrid (LBP) és un component rellevant de la resposta d'immunitat innata, que s'assumeix que és produïda principalment pel fetge, però també se sintetitza al teixit adipós i a l'intestí prim. Vam observar que els nivells circulants d'LBP augmentaven amb l'obesitat i, en pacients amb obesitat mòrbida, en aquells que presenten la malaltia del fetge gras no alcohòlic (NAFLD). Els ratolins deficients en LBP (LBP-KO) mostraven una disminució de l'acumulació de lípids hepàtics en el context de l'obesitat. Els ratolins LBP-KO també van mostrar una disminució en l'augment de pes, la inducció del *browning* del teixit adipós i protecció contra les respostes inflamatòries induïdes per una dieta rica en greixos. Això ens va portar a avaluar l'ús d'LBP com a diana terapèutica emprant models de ratolins amb obesitat induïda per la dieta. El silenciament específic del gen LBP al fetge mitjançant nanopartícules lipídiques encapsulant molècules modificades de siRNA va reduir l'esteatosi hepàtica i va millorar la resistència a la insulina en models de ratolins amb obesitat induïda per la dieta. A més, l'anul·lació específica del gen *LBP* al teixit adipós mitjançant vectors lentivirals d'shRNA-LBP va prevenir l'augment de pes corporal induït per dieta i va induir el *browning* del teixit adipós. En conclusió, LBP és alhora un biomarcador i un actor actiu en la determinació de la inflamació associada a la resistència a la insulina i l'esteatosi hepàtica en l'obesitat. Els nostres resultats donen suport a la idea que la intervenció per bloquejar LBP, mitjançant un silenciament teixit-específic al fetge o al teixit adipós, és una estratègia terapèutica prometedora per millorar les alteracions metabòliques associades a l'obesitat i la diabetis.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Les nostres dades i d'altres han revelat que existeix una correlació negativa entre els nivells circulants d'FGF19 i l'obesitat i la diabetis de tipus 2 en humans. Proposem els nivells plasmàtics d'FGF19 com a un biomarcador i actor regulador en relació amb l'obesitat i els trastorns metabòlics associats.

El factor endocrí FGF15/19 és un component de la senyalització d'origen intestinal (enterocina) que està implicat en la regulació de la plasticitat adiposa en el procés d'adaptació termogènica. Tenint present que el *browning* del teixit adipós blanc i l'activació termogènica protegeixen contra malalties metabòliques en models murins i possiblement també en humans, proposem FGF15/19 com un mecanisme molecular que facilita la comunicació de l'intestí vers el teixit adipós, i una diana terapèutica per promoure la despesa energètica i la millora de l'homeòstasi metabòlica.

Els nivells de lisozim en sèrum/plasma i en teixit adipós s'associen de manera significativa a l'obesitat i la resistència a la insulina. A més, els estudis preclínic (ratolins) realitzats demostren que el silenciament de lisozim en teixit adipós redueix el guany de pes i millora la fisiologia del teixit adipós. Proposem avaluar en futurs projectes l'impacte de la modulació de lisozim en l'obesitat i la resistència a la insulina en humans.

La inhibició de la expressió hepàtica d'LBP emprant nanopartícules lipídiques és una via segura per reduir els nivells d'LBP circulants i té un efecte terapèutic, ja que prevé i redueix l'acumulació de greix hepàtic i millora la fisiologia del teixit adipós i la sensibilitat a la insulina. Aquestes troballes han portat a presentar una patent. El següent pas seria planificar experiments preclínic en primats no humans per confirmar aquests efectes beneficiosos abans de plantejar assajos clínics en humans.

El silenciament d'LBP en teixit adipós confirmaria la importància d'LBP en l'expansió i hipertròfia del teixit adipós.

En resum, i tenint presents les dades de l'estudi actual, es poden plantejar diverses aproximacions de teràpia gènica: silenciar LBP hepàtic mitjançant nanopartícules de siRNA pot ser una eina molt útil per prevenir l'esteatosi hepàtica i millorar la sensibilitat a la insulina, mentre que silenciar LBP i lisozim al teixit adipós podria millorar els trastorns metabòlics associats a l'obesitat.

4. Bibliografía científica generada

Moure R, Cairó M, Morón-Ros S, Quesada-López T, Campderrós L, Cereijo R, Hernáez A, Villarroya F, Giralt M.

Levels of β -klotho determine the thermogenic responsiveness of adipose tissues: involvement of the autocrine action of FGF21.

Am J Physiol Endocrinol Metab. 2021 Apr 1;320(4):E822-E834.

doi: 10.1152/ajpendo.00270.2020. Epub 2021 Feb 22. PMID: 33615874.

Latorre J, Lluch A, Ortega FJ, Gavaldà-Navarro A, Comas F, Morón-Ros S, Rodríguez A, Becerril S, Villarroya F, Frühbeck G, Ricart W, Giralt M, Fernández-Real JM, Moreno-Navarrete JM.

Adipose tissue knockdown of lysozyme reduces local inflammation and improves adipogenesis in high-fat diet-fed mice.

Pharmacol Res. 2021 Apr;166:105486.

doi: 10.1016/j.phrs.2021.105486. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33556481.

Morón-Ros S, Uriarte I, Berasain C, Avila MA, Sabater-Masdeu M, Moreno-Navarrete JM, Fernández-Real JM, Giralt M, Villarroya F, Gavaldà-Navarro A.

FGF15/19 is required for adipose tissue plasticity in response to thermogenic adaptations.

Mol Metab. 2021 Jan;43:101113.

doi: 10.1016/j.molmet.2020.101113. Epub 2020 Nov 7. PMID: 33171307.

Moreno-Navarrete JM, Latorre J, Lluch A, Ortega FJ, Comas F, Arnoriaga-Rodríguez M, Ricart W, Fernández-Real JM.

Lysozyme is a component of the innate immune system linked to obesity associated-chronic low-grade inflammation and altered glucose tolerance.

Clin Nutr. 2021 Mar;40(3):1420-1429.

doi: 10.1016/j.clnu.2020.08.036. Epub 2020 Sep 4. PMID: 32943240.

Villarroya F, Gavaldà-Navarro A, Peyrou M, Villarroya J, Giralt M.

Brown Adipokines.

Handb Exp Pharmacol. 2019;251:239-256.

doi: 10.1007/164_2018_119. PMID: 29675584. Springer Nature. ISBN : 978-3-030-10512-9.

Villarroya F, Gavaldà-Navarro A, Peyrou M, Villarroya J, Giralt M.

The Lives and Times of Brown Adipokines.

Trends Endocrinol Metab. 2017 Dec;28(12):855-867.

doi: 10.1016/j.tem.2017.10.005. PMID: 29113711.

Articles en revisió

Comas F, Díaz-Trelles R, Latorre J, Gavaldà-Navarro A, Morón-Ros S, Mukthavaram R, Ortega F, Castells-Nobau A, Mayneris-Perxachs J, Milbank E, Dragano N, Oliveras-Cañellas N, Ricart W, Federici M, Burcelin R, López M, Karmali PP, Tachikawa K, Chivukula P, Villarroya F, Giralt M, Fernández-Real JM, Moreno-Navarrete JM.

The targeting of LBP through lipid nanoparticles containing unlocked nucleic acid modified siRNAs improves metabolic-associated fatty liver disease in mice.

Nat Commun. (En revisió, primera ronda positiva.)

Latorre J, Ortega F, Oliveras-Cañellas N, Comas F, Lluch A, Gavaldà-Navarro A, Morón-Ros S, Ricart W, Villarroya F, Giralt M, Fernández-Real JM, Moreno-Navarrete JM.

Specific adipose tissue Lbp gene knockdown prevents diet-induced body weight gain, impacting on fat accretion-related gene expression.

Mol Ther Nucleic Acids. (En revisió, primera ronda positiva.)

Articles en preparació

Comas F, Díaz-Trelles R, Gavaldà-Navarro A, Milbank E, Dragano N, Morón-Ros S, Mukthavaram R, Latorre J, Ortega F, Arnoriaga-Rodríguez M, Oliveras-Cañellas N, Ricart W, Karmali PP, Tachikawa K, Chivukula P, Villarroya F, Giralt M, López M, Fernández-Real JM, Moreno-Navarrete JM.

Plasma lipopolysaccharide-binding protein is involved in gender-related differences in food consumption, fat accretion and adipose tissue dysfunction.

Manuscrit en preparació.