



Fundació
La Marató de TV3

22è SIMPOSIUM
Diabetis i Obesitat



UNA NOVA ESPERANÇA PER A LA DIABETIS TIPUS 1: NANOTERÀPIA PER PARAR L'AUTOIMMUNITAT COMBINADA AMB REGENERACIÓ DE CÈL·LULES BETA

Marta Vives Pi

HUGTiP Institut d'Investigació Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

1. Resum

La diabetis *mellitus* de tipus 1 (DM1) és una malaltia metabòlica de causa desconeguda que afecta majoritàriament nens i adolescents; en compromet seriosament la qualitat de vida i els comporta importants complicacions secundàries. Malauradament, la seva incidència va en augment a tot el món. La DM1 es diagnostica després de la destrucció de les cèl·lules beta productores d'insulina per part del sistema immunitari i per això es diu que és una malaltia autoimmunitària. La DM1 era mortal fa un segle, just quan es va descobrir la insulina. L'administració diària d'aquesta hormona és l'únic tractament avui en dia per mantenir controlada la glucosa en sang, però no està exempta de complicacions. El fracàs dels assajos clínics que s'han dut a terme en les últimes dècades per aturar l'autoimmunitat demostra la necessitat de disposar de noves estratègies. El nostre grup ha generat una nova nanoteràpia basada en petites partícules (anomenades *liposomes*) que aturen la destrucció de cèl·lules beta en DM1 i desactiven l'autoimmunitat. Malgrat això, la immunoteràpia és insuficient per revertir la malaltia perquè les cèl·lules productores d'insulina romanents són insuficients per al metabolisme correcte de la glucosa. Tot i això la combinació de la immunoteràpia amb estratègies de regeneració podria contribuir a curar la malaltia. Per tant, l'objectiu d'aquest projecte va ser desenvolupar una teràpia combinada per al tractament de la DM1, conjuntant liposomes i un fàrmac amb capacitat de regeneració de cèl·lules beta; aquest fàrmac es podia identificar mitjançant l'anàlisi de reposicionament de fàrmacs (és a dir, un fàrmac ja aprovat per a ús en altres malalties humanes que tingués un efecte regenerador).

En els tres anys de durada del projecte es van testar diferents formulacions de liposomes i es va seleccionar la que millors resultats va oferir tant en ratolins com en cèl·lules del sistema immunitari de pacients amb DM1. Es van dur a terme estudis de seguretat i tolerabilitat que van demostrar que els liposomes eren segurs, biocompatibles i sense efectes secundaris. Al mateix temps, es va fer una anàlisi bioinformàtica i es va obtenir un llistat de fàrmacs amb potencial regenerador. Es va seleccionar un d'aquests medicaments (anomenat *liraglutida*) i es va demostrar que la seva administració a ratolins diabètics augmentava la massa de cèl·lules beta a través de dos mecanismes: la neogènesi (generació de cèl·lules beta a partir de ductes pancreàtics) i transdiferenciació (generació de cèl·lules beta a partir de cèl·lules alfa dels illots pancreàtics). Amb aquests resultats encoratjadors, el següent pas va ser

combinar les dues estratègies per demostrar que la teràpia combinada (immunoteràpia i regenerativa) és efectiva per revertir la DM1 experimental i no té efectes adversos observats. En conclusió, aquesta teràpia és una estratègia innovadora candidata per a la DM1.

S'aporta un vídeo amb un comentari divulgatiu a través de la Societat Catalana d'Immunologia: <https://www.youtube.com/watch?v=boOIYaaj1RM>.

2. Resultats

Els resultats dels tres anys de desenvolupament del projecte es detallen a continuació.

1. En primer lloc, es van definir les nanopartícules (liposomes) òptimes per a una teràpia combinada per a la DM1, i es va determinar l'efecte de diverses formulacions en el model de la malaltia, el ratolí NOD (no obès diabètic), que desenvolupa una diabetis de tipus 1 similar a la humana. Es van dur a terme estudis de seguretat i tolerabilitat en ratolins que van demostrar que els liposomes eren segurs, biocompatibles i sense efectes secundaris.
2. Es va comprovar l'efecte tolerogènic de la immunoteràpia seleccionada en cèl·lules dendrítiques de pacients amb DM1 dels serveis de Pediatria i Endocrinologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol. Es va confirmar la capacitat dels liposomes per aturar l'autoimmunitat tant en pacients pediàtrics com en adults i en diferents fases de la malaltia (des del diagnòstic fins a llarga evolució).
3. En paral·lel, es va fer un reposicionament de fàrmacs, en col·laboració amb l'empresa Anaxomics Biotech SL. Es tracta d'una anàlisi bioinformàtica per trobar medicaments que tenen efectes addicionals beneficiosos en altres indicacions. En aquest projecte, es va buscar un fàrmac ja aprovat per a ús en altres malalties humanes que tingués un efecte regenerador per a les cèl·lules beta. Es va obtenir un llistat de fàrmacs amb potencial regenerador i se'n va seleccionar el més potent i segur. Aquest fàrmac, anomenat *liraglutida*, es va administrar a ratolins amb diabetis i es va demostrar la seva capacitat per regenerar cèl·lules beta. Aquest efecte es va observar en el pàncrees, on es va evidenciar una regeneració de cèl·lules beta a partir

de cèl·lules ductals (neogènesi) i cèl·lules alfa productores de glucagó (transdiferenciació), tal com es representa a la figura 1.

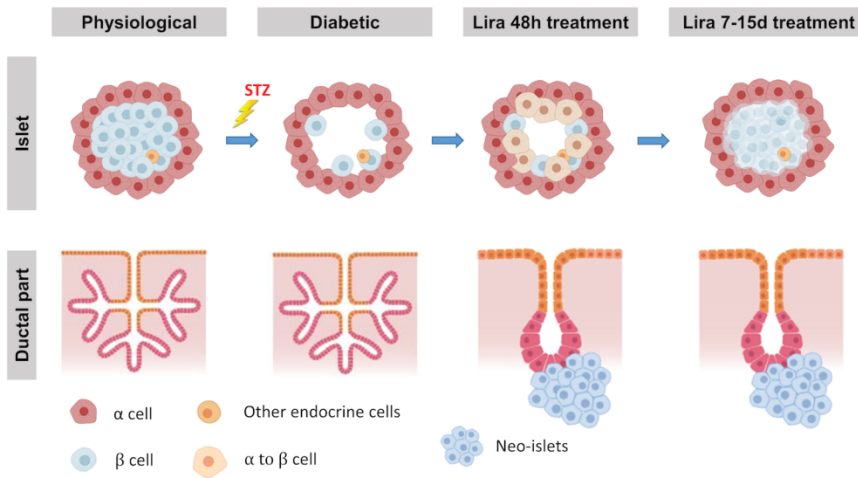


Figura 1. Model de regeneració de cèl·lules beta induïda pel fàrmac liraglutida. A la fila superior (d'esquerra a dreta) es veu com es van eliminar les cèl·lules beta amb estreptozotocina (STZ), i es va començar a tractar el ratolí diabètic amb liraglutida, fet que va causar transdiferenciació de cèl·lules alfa (productores de glucagó) a cèl·lules beta (productores d'insulina). A la fila inferior s'observa l'efecte del fàrmac sobre els ductes pancreàtics, el qual causa neogènesi de cèl·lules beta a partir de cèl·lules ductals i nova aparició d'estructures d'illot (neoislets).

4. Un cop confirmat aquest efecte, es va dissenyar la teràpia combinada amb liposomes més liraglutida i es va testar en el model experimental de la malaltia, el ratolí NOD, a escala metabòlica, immunològica i regeneradora. Els resultats van mostrar que liraglutida té la capacitat de reduir la hiperglucèmia en diabetis de tipus 1 regenerant cèl·lules beta. La teràpia combinada (liposomes més liraglutida) és efectiva per revertir la malaltia experimentalment.

5. De cara a aproximar la teràpia a les persones amb DM1, es va explorar l'efecte de la teràpia mitjançant experiments *in vitro* amb cèl·lules del sistema immunitari de pacients del Servei d'Endocrinologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol amb resultats positius. La manca d'interferència negativa entre els dos fàrmacs es va confirmar *in vivo* en ratolins humanitzats, un model experimental avançat per a experiments preclínic.

En resum, es van assolir els objectius del projecte. Malgrat que encara cal fer més recerca, podem concloure que la teràpia combinada desenvolupada en aquest projecte pot ser candidata per al guariment de la DM1 i obre la porta a adaptar la mateixa estratègia a altres malalties autoimmunitàries.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest projecte ha resultat en l'optimització de la immunoteràpia basada en liposomes generada al nostre grup l'any 2015 i la demostració del seu efecte en el sistema immunitari humà. Al mateix temps, l'anàlisi de reposicionament de fàrmacs, feta en col·laboració amb Anaxomics Biotech SL, ha identificat un fàrmac (liraglutida) amb potencial regenerador per a les cèl·lules productores d'insulina afectades a la DM1. Liraglutida (que rep el nom comercial de Victoza®, Novo-Nordisk A/S) regenera les cèl·lules beta mitjançant dos mecanismes diferents, cosa que contribueix a restaurar la normoglucèmia a la diabetis de tipus 1. Per tant, hem fet un pas endavant cap a una nova estratègia terapèutica per a la DM1 en forma de teràpia combinada. Les implicacions clíniques derivades dels resultats i conclusions d'aquest projecte o el possible impacte d'aquests resultats en el maneig i cura dels malalts es detallen a continuació:

- Es defineixen els liposomes òptims per a un futur assaig clínic per a la DM1.
- Mitjançant reposicionament de fàrmacs, hem identificat un fàrmac (liraglutida) que té un efecte regenerador de cèl·lules beta. El fet que sigui un producte que ja està al mercat fa que la seva utilització en pacients amb DM1 pugui ser més ràpida que la creació d'un nou fàrmac.
- Es demostra que la teràpia combinada funciona i pot revertir la malaltia. La prevenció de la DM1 amb liposomes s'havia demostrat anteriorment, però la immunoteràpia per si sola no era capaç de curar-la. Combinar una immunoteràpia amb un fàrmac regenerador és un abordatge de teràpia combinada per aturar definitivament l'atac autoimmunitari i regenerar les cèl·lules beta. Hem demostrat que la interferència de les dues teràpies no altera l'efecte de cap dels dos productes.

Aquest projecte posa en l'horitzó una teràpia combinada innovadora per restaurar la secreció endògena d'insulina i aturar de manera definitiva l'atac autoimmunitari, i alhora restablir la tolerància immunològica de manera selectiva i sense comprometre el bon funcionament del sistema immunitari.

4. Bibliografia científica generada

Articles originals

Rodríguez-Fernández S, Pujol-Autonell I, Brianso F, Perna-Barrull D, Cano-Sarabia M, Garcia-Jimeno S, Villalba A, Sanchez A, Aguilera E, Vázquez F, Verdaguer J, Maspoch D, Vives-Pi M.

Phosphatidylserine-Liposomes Promote Tolerogenic Features on Dendritic Cells in Human Type 1 Diabetes by Apoptotic Mimicry.

Frontiers in Immunology 9:253, 2018.

Rodríguez-Fernández S, Murillo M, Villalba A, Perna-Barrull D, Cano-Sarabia M, Gomez-Muñoz L, Aguilera E, Maspoch D, Vazquez F, Bel J, Vives-Pi M.

Impaired phagocytosis in dendritic cells from pediatric patients with type 1 diabetes does not hamper their tolerogenic potential.

Frontiers in Immunology 10:2811, 2019.

Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Ampudia RM, Cano-Sarabia M, Perna-Barrull D, Bertran-Cobo C, Ehrenberg C, Maspoch D, Vives-Pi M.

Preclinical evaluation of antigen-specific nanotherapy based on phosphatidylserine-liposomes for type 1 diabetes.

Artif Cell Nanomed Biotech. 48 (1):77-83, 2020.

Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Perna-Barrull D, Ampudia RM, Gómez-Muñoz L, Pujol-Autonell I, Aguilera E, Coma M, Cano-Sarabia M, Vázquez F, Verdaguer J, Vives-Pi M.

Repurposed analogue of GLP-1 ameliorates hyperglycaemia in diabetic mice through pancreatic cell reprogramming.

Frontiers in Endocrinology, May 2020, 11:258, 2020.

Villalba A, Rodríguez-Fernández S, Perna-Barrull D, Ampudia RM, Gómez-Muñoz L, Pujol-Autonell I, Aguilera E, Risueño RM, Cano-Sarabia M, Maspoch D, Vázquez F, Vives-Pi M.

Antigen-specific immunotherapy combined with a regenerative drug in the treatment of experimental type diabetes.

Sci Rep 10:18927, 2020.

Tesi doctoral

Adrián Villalba Felipe

Combined therapy for type 1 diabetes: Immunotherapy and regenerative strategies.

Octubre del 2020.

Excel·lent *cum laude*.

Article divulgatiu

Vives-Pi, M.

Reeducar al sistema inmunitario para detener el ataque a las células beta. La tolerancia es la clave.

Revista *Diabetes* (SED), pàg. 20-23, desembre del 2019.

Enllaç: https://fundacion.sediabetes.org/wp-content/uploads/2019/10/Revista_Diabetes_60/