

TERAPIA CELULAR EN DIABETES: NUEVAS ESTRATEGIAS PARA GENERAR CÉLULAS BETA SUSTITUTAS Y OPTIMIZACIÓN DEL TRASPLANTE

Informe de seguimiento 2017-2018

Objetivo general del proyecto

El objetivo general del proyecto es investigar estrategias innovadoras de terapia celular para la DT1 basadas en la generación de células productoras de insulina a partir de células de la piel del propio paciente y su posterior trasplante utilizando un armazón biocompatible combinado con una estrategia genética que permita y promueva la vascularización del injerto.

Los objetivos específicos del proyecto desarrollados durante esta anualidad han sido:

- 1) Caracterizar la función *in vitro* de los fibroblastos reprogramados a célula beta (células fibro-beta o CFB).
- 2) Caracterizar la función *in vivo* de las CFB.

Experimentos realizados y resultados obtenidos

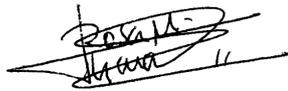
En esta primera etapa del proyecto, hemos optimizado el diseño del protocolo de reprogramación celular para convertir células de la piel humanas en células productoras de insulina similares a las células beta del páncreas (que hemos llamado CFB, siglas para "Células Fibro-Beta"). El protocolo se basa en la introducción secuencial en los fibroblastos humanos de cinco factores transcripcionales de célula beta. Estos factores son proteínas que regulan genes característicos de las células beta como el de la insulina y que no se encuentran normalmente en los fibroblastos. Hasta el momento hemos conseguido:

- 1- Detectar la producción de insulina por parte de las células CFB.
- 2- Comprobar que la insulina producida por las células CFB es secretada al medio externo, aunque la respuesta al estímulo de glucosa es muy leve.
- 3- Establecer que las células CFB presentan rasgos funcionales de célula beta como es la entrada de calcio en respuesta a la glucosa. Nuestros resultados muestran que el 70% de las células CFB generadas con nuestro protocolo de reprogramación muestran un patrón de flujo de calcio en respuesta al incremento de glucosa y a la despolarización de la membrana similar a las células beta pancreáticas.
- 4- Trasplantar células CFB debajo de la cápsula renal de ratones inmunodeprimidos. Tras un periodo de 10 días, hemos podido detectar insulina humana circulante en respuesta a la administración de glucosa en el 33% de los animales trasplantados. También hemos detectado la presencia de insulina humana en los implantes, lo que indica que las células CFB sobreviven en un organismo vivo.

Los resultados obtenidos son prometedores pero también han puesto de manifiesto que se debe optimizar la reprogramación con el fin conseguir una mejor funcionalidad de las células CFB generadas, en concreto, conseguir la secreción regulada de insulina. Para ello, hemos iniciado una serie de experimentos en los que estudiamos los efectos de la adición de sustancias solubles descritas como

inductoras de maduración de células beta a partir de células madre. También hemos cambiado las condiciones de cultivo de las células CFB pasando de un cultivo bidimensional a uno de tridimensional. Hasta el momento, hemos comprobado que esta modificación mejora la activación de genes de célula beta y mejora la secreción de insulina en respuesta a glucosa *in vitro*.

Barcelona, 16 de octubre de 2018

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Rosa Gasa', with a horizontal line drawn through it.

Rosa Gasa, PhD
Investigador principal