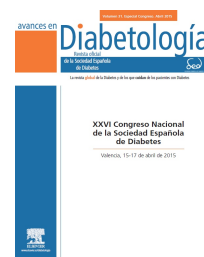




Avances en Diabetología



O-013. - EXPANSIÓN DE LINFOCITOS TR1 DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN UN MODELO MURINO HUMANIZADO

A.J. Blanco Carrasco^a, N. Garabatos^b, C. Fandos^b, A. Moore^c, E.A. James^d, P. Serra^b y P. Santamaría^e

^aCentro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Barcelona. ^bInstitut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Barcelona. ^cMassachusetts General Hospital. Charlestown. Estados Unidos. ^dBenaroya Research Institute. Seattle. Estados Unidos. ^eInstitut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Julia McFarlane Diabetes Research Centre. Calgary. Canadá.

Resumen

Objetivos: Comprobar la potencialidad del tratamiento con nanopartículas (NP) recubiertas de complejos péptido-complejo principal de histocompatibilidad (pMHC) para expandir linfocitos T afines con fenotipo regulador de tipo 1 (Tr1) en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1).

Material y métodos: A partir de 50 ml de sangre procedente de 7 pacientes adultos (4 hombres y 3 mujeres, edad media = 33 años), heterocigotos para DRB1*0301 y con DM1 de menos de un año de evolución (media = 5,9 meses), reconstituimos con 2×10^7 células mononucleares de sangre periférica deplecionadas de linfocitos T CD8+ 14 ratones inmunodeficientes (NOD.scid/Il2rg^{-/-}). Por cada paciente reconstituimos dos ratones, uno de ellos sería tratado con NP recubiertas con IGRP₁₃₋₂₅-DRB1*0301 (10 dosis de 20 µg durante 5 semanas) y el otro con el mismo tampón fosfato salino con el que se resuspendían las NP. Evaluamos mediante citometría de flujo la expansión de linfocitos T CD4+ empleando tetrámeros del complejo IGRP₁₃₋₂₅-DRB1*0301. Para la caracterización como Tr1 comprobamos la expresión en superficie de CD49 y CD223 y la expresión de IL-10 cuantificando RNA mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. Los resultados están expresados como media [error estándar de la media]. Los grupos fueron comparados mediante t de Student o U de Mann-Whitney y las correlaciones fueron evaluadas mediante el test de Pearson.

Resultados: Detectamos una expansión de linfocitos CD4+/CD49b+/LAG3+ en bazo y/o ganglios linfáticos pancreáticos en todos los ratones tratados en comparación con los controles: 0,44 vs 0,18% (p = 0,026) en bazo y 1,28 vs 0,09% (p = 0,034) en ganglios linfáticos pancreáticos. Hubo un incremento significativo del número total de células tetrámero + en bazo en los ratones tratados: 94.395 [24.721] vs 42.083 [9.266] (p = 0,042), así como una correlación positiva entre el número de linfocitos CD4+ tetrámeros + y la celularidad en los ganglios pancreáticos, $r^2 = 0,658$ (p = 0,008). Los linfocitos tetrámero + mostraron una mayor expresión de RNA de IL-10 33,9 vs 1,0 2^{-ΔΔCT} (p = 0,018).

Conclusiones: Las NP recubiertas con pMHC tienen capacidad para expandir linfocitos Tr1 afines humanos en un modelo murino humanizado. Ello confirma la actividad biológica de estas NP con pMHC de clase II sobre el sistema inmune humano y debería permitir el uso de este modelo para

comprobar la eficacia de diferentes compuestos unidos a las NP así como la detección de pacientes con respuesta a ellos de cara al diseño de futuros ensayos clínicos con estas nanomedicinas.