

Současný výzkum a léčba diabetu v budoucnosti

Aneta Buchtelová

aneta.buchtelova@gmail.com

Centrum podpory aplikačních výstupů a
spin-off firem
1. LF UK

Moderní technologie v diabetologii
Zimní semestr 2020/21

Transplantace

- Současné možnosti:
 - a) Orgánová transplantace
 - b) Transplantace ostrůvků
 - c) Transplantace kostní dřeně
- Orgánová transplantace pankreatu se v ČR provádí od roku 1984
- Transplantace Langerhansových ostrůvků v IKEMu od r. 2005

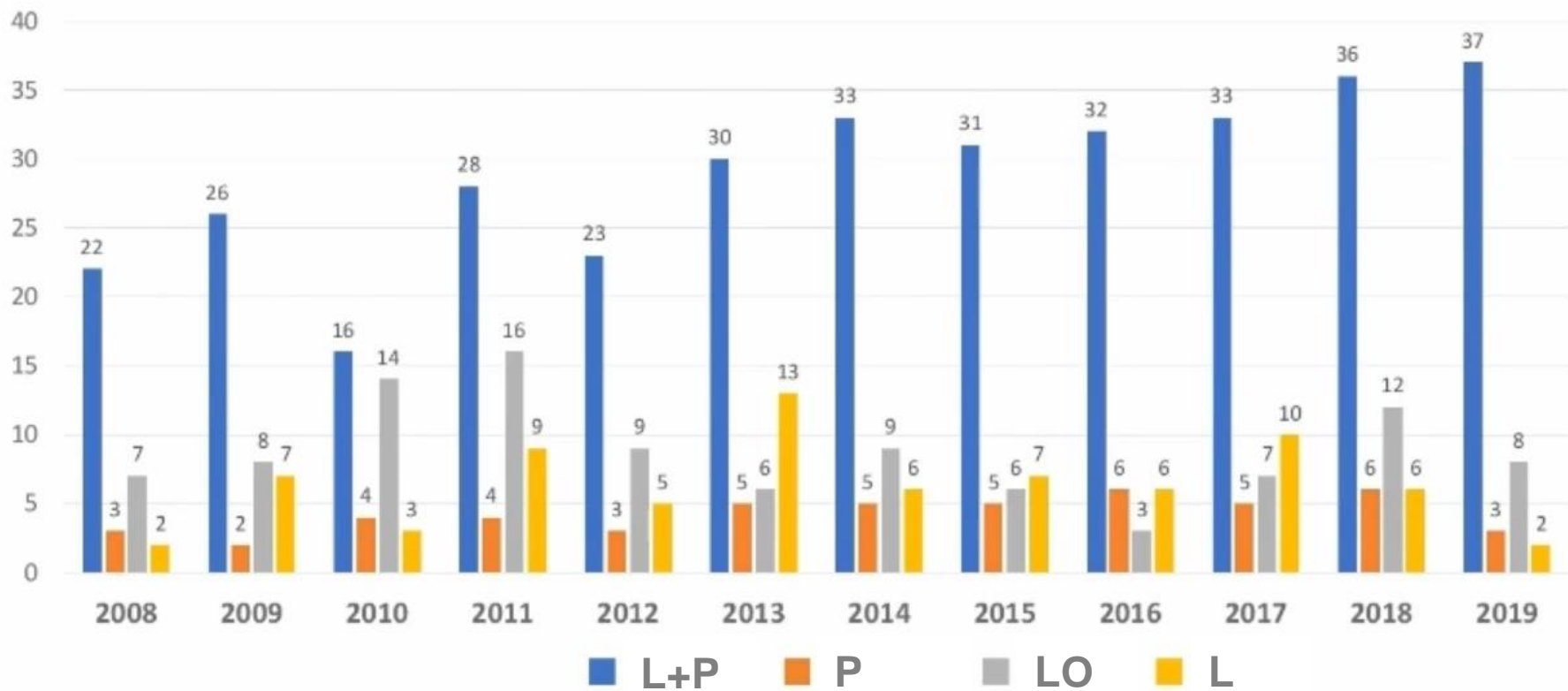
Indikace k transplantaci

- T1DM
- Časté hypoglykémie – syndrom porušeného rozpoznávání hypoglykemií
- Současná renální insuficience – výhoda kombinované transplantace
- Velká motivovanost pacientů

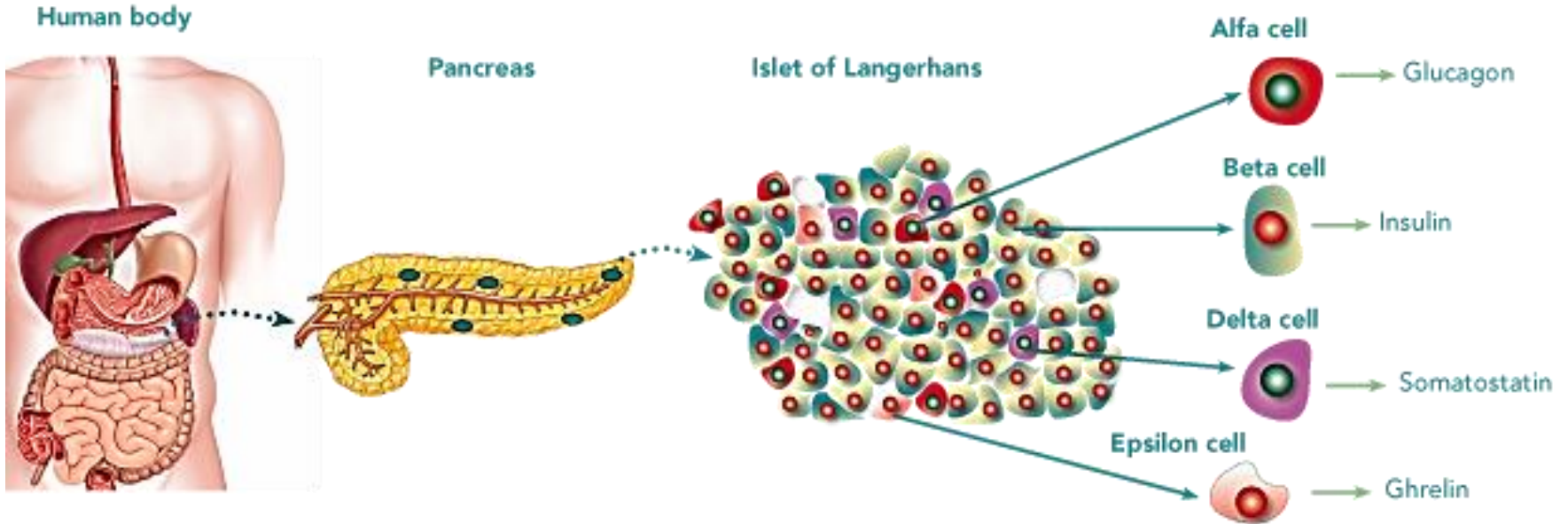
Problémy transplantací

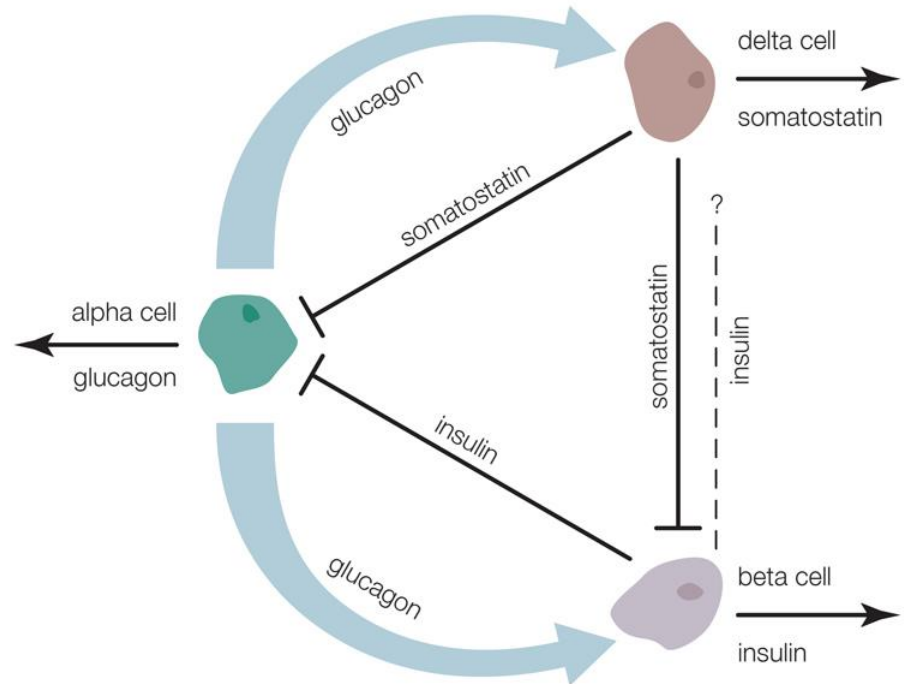
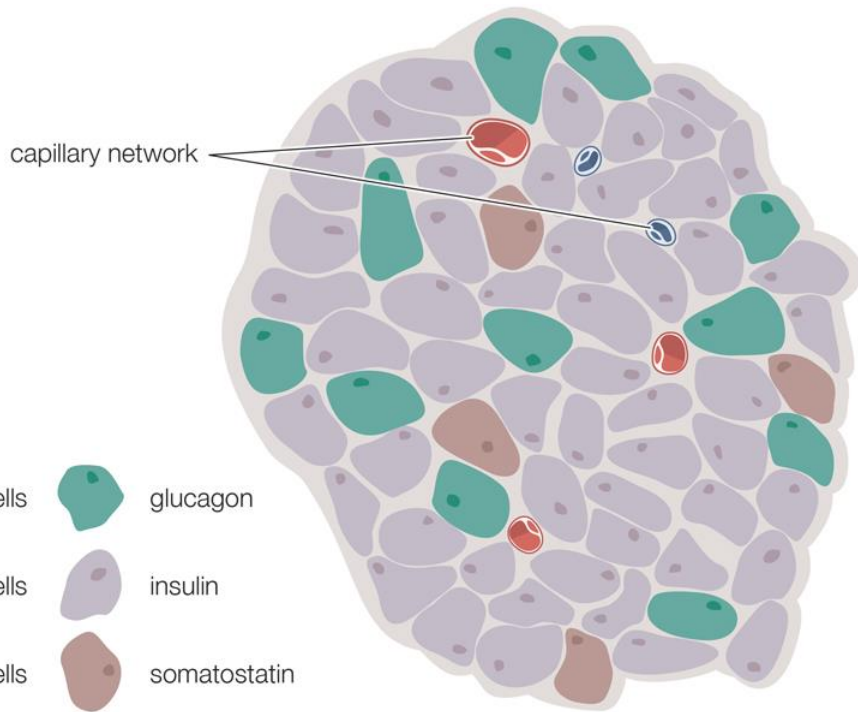
- **Imunosupresivní léčba** → proto je výhodná kombinovaná transplantace pankreatu a ledvin
- **Převažují ale pozitiva**
 - Odpadá nutnost aplikace inzulínu (alespoň částečně)
 - Není třeba dodržovat zvláštní dietní režim

Transplantace u pacientů s DM 1 v IKEM

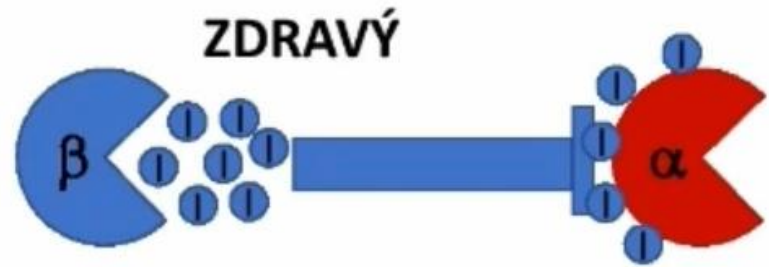


Transplantace Langerhansových ostrůvků





HYPERGLYKEMIE



HYPOGLYKEMIE



DIABETIK

HYPERGLYKEMIE



HYPOGLYKEMIE



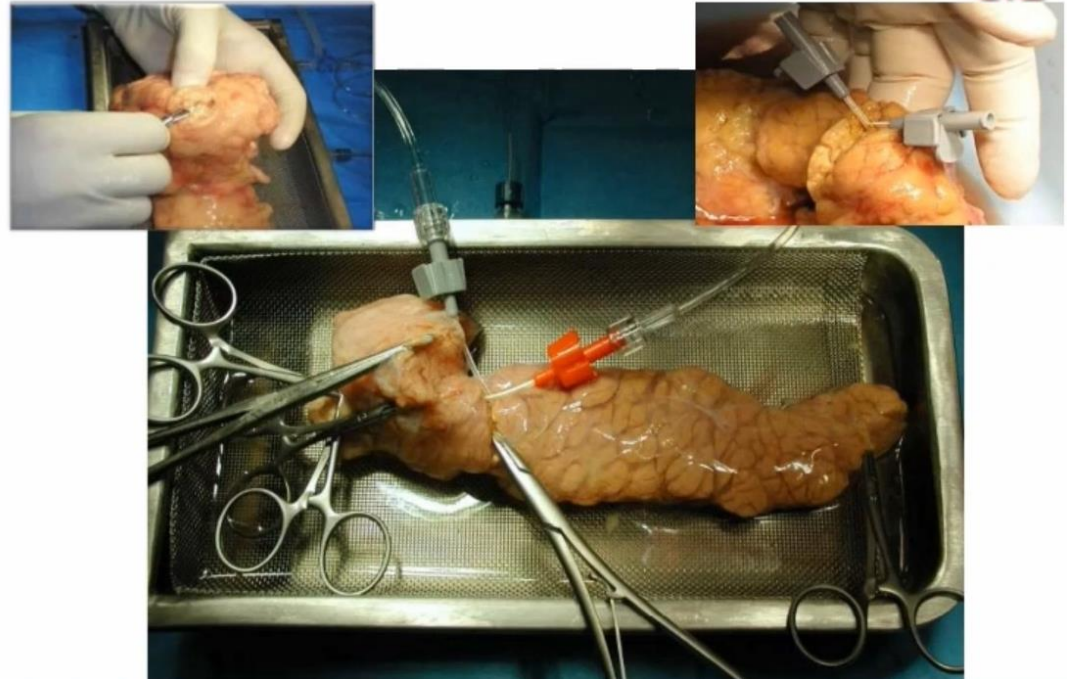
Transplantace Langerhansových ostrůvků

- Transplantace pouze endokrinní tkáně
- Při orgánové transplantaci je až 98 % tkáně nepotřebné (ale transplantují se všechny LO)
- ALE Tx LO: ztráta až **50 %** funkční tkáně (při odstraňování exokrinní tkáně, dalších ztráta při samotné transplantaci)

Transplantace Langerhansových ostrůvků

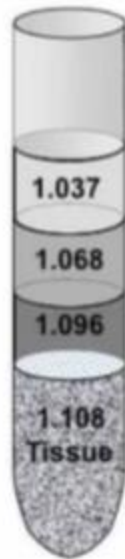
1. enzymatická digesce žlázy enzymem kolagenázou

→ 50-60 ml tkáňové suspenze



Transplantace Langerhansových ostrůvků

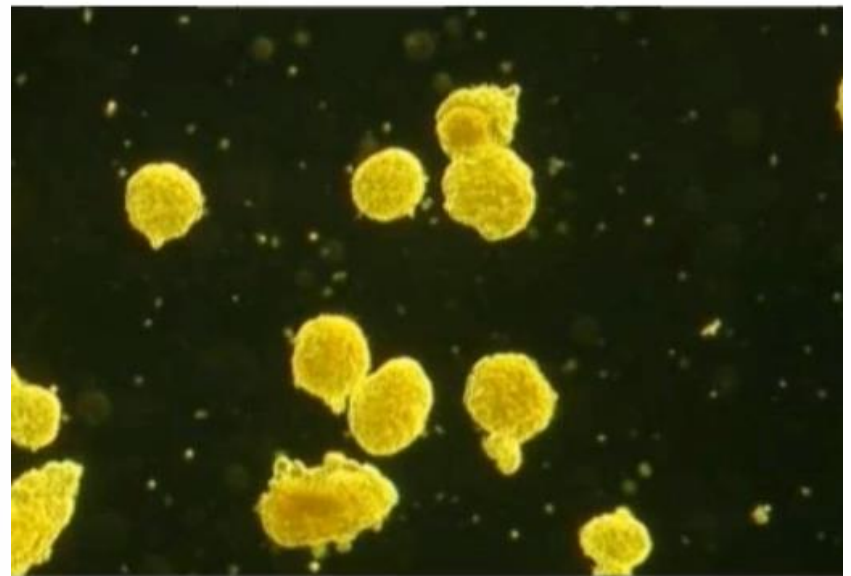
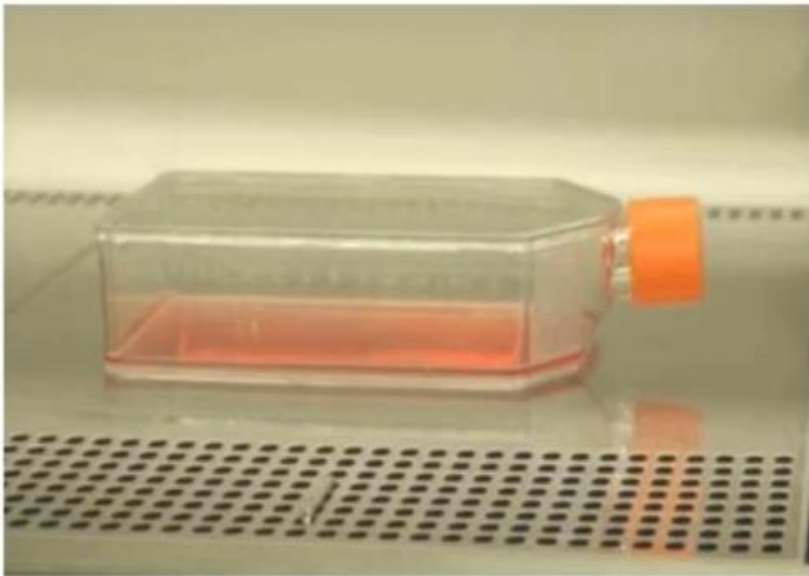
2. centrifugace v hustotním gradientu k oddělení exo- a endokrinní části



- Výtěžek 2-8 ml transplantovatelné tkáně

Transplantace Langerhansových ostrůvků

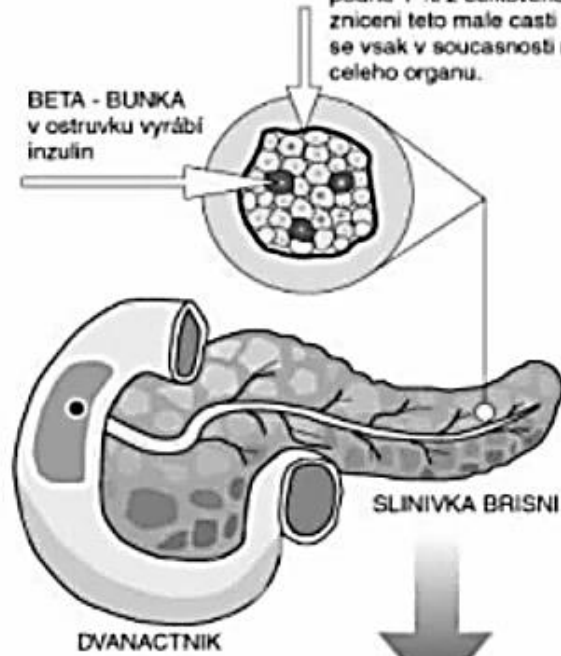
3. regenerace izolovaných buněk v tkáňové kultuře



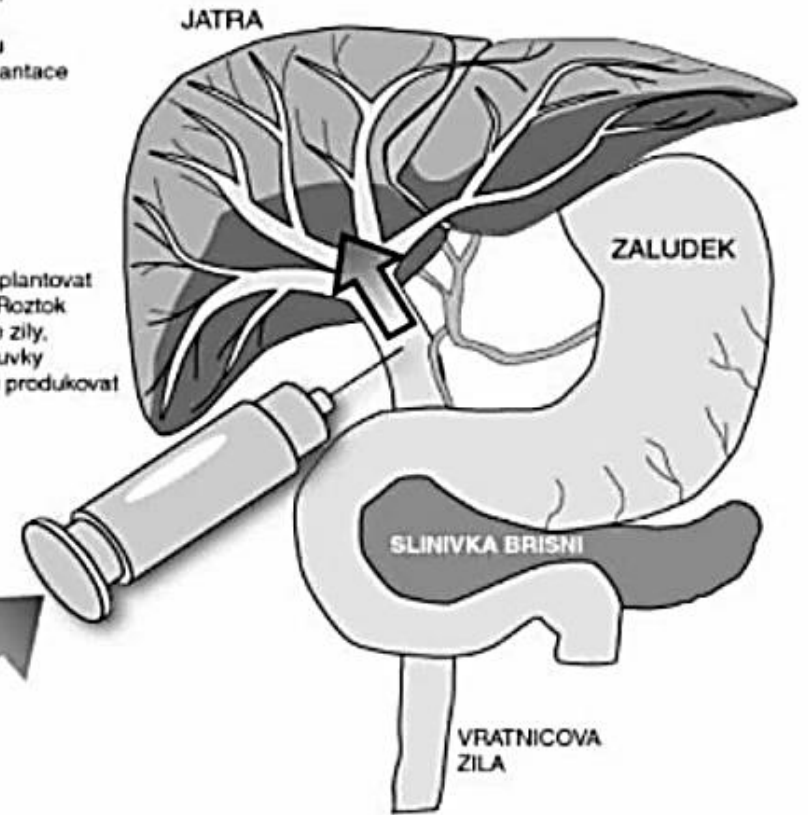
- výtěžek: 1 mil. → **300tis. ostrůvků**

LANGERHANSUV OSTRUVEK. Ostruvky predstavujú pouhých 1 % z celkového objemu slinivky brisní. Kvôli zničeniu tela malej časti tkaniva pri vzniku diabetu 1. typu sa však v súčasnosti musí provádzať náročná transplantácia celého orgánu.

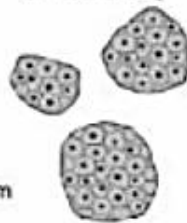
BETA - BUNKA
v ostruvku vyrábá inzulín



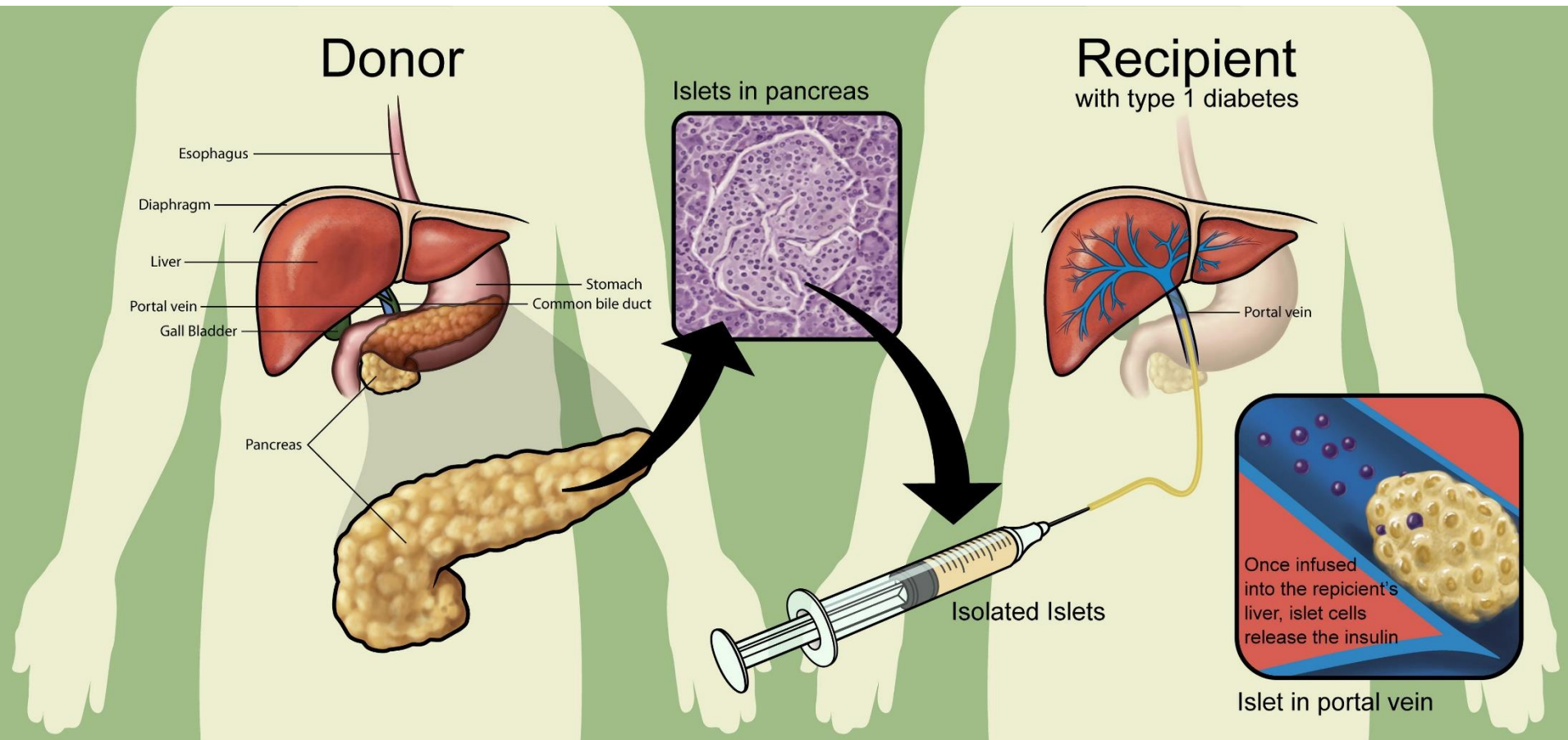
Ostruvky sa nebudú implantovať do slinivky, ale do jater! Roztok sa vstrikne do vratnicovej žily, krvným obehom sa ostruvky usadia v jatrech a začnú produkovať inzulín.



čisté ostruvky



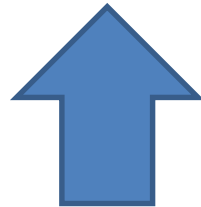
Technika izolácie Langerhansových ostruvkov je mimorádne náročná. Z tela zemrelého dárce sa vyjme slinivka brisní. Tá sa promýva špeciálnym roztokom, ktorý ostruvky uvoľňuje z tkaniva. Získané ostruvky sa ďalej čistia.



- Provádí se pouze v lokální anestezii

Technické komplikace transplantací

- Nedostatek dárců → možné řešení jsou alternativní zdroje buněk produkujících inzulin



Cíl současných výzkumů

Alternativní zdroje beta-buněk produkujících inzulín

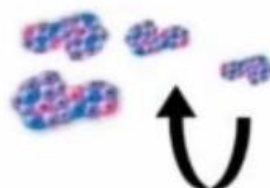
Kmenové buňky

- přeměna/diferenciace
embryonálních nebo dospělých
kmenových buněk na beta-buňky



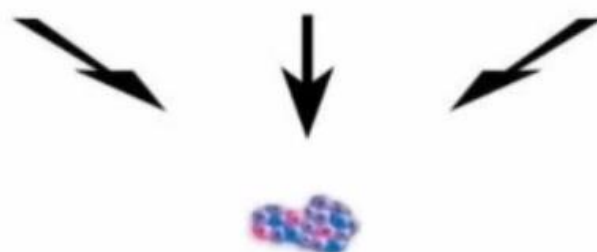
Proliferace beta-buněk

- namnožení vlastních
beta-buněk

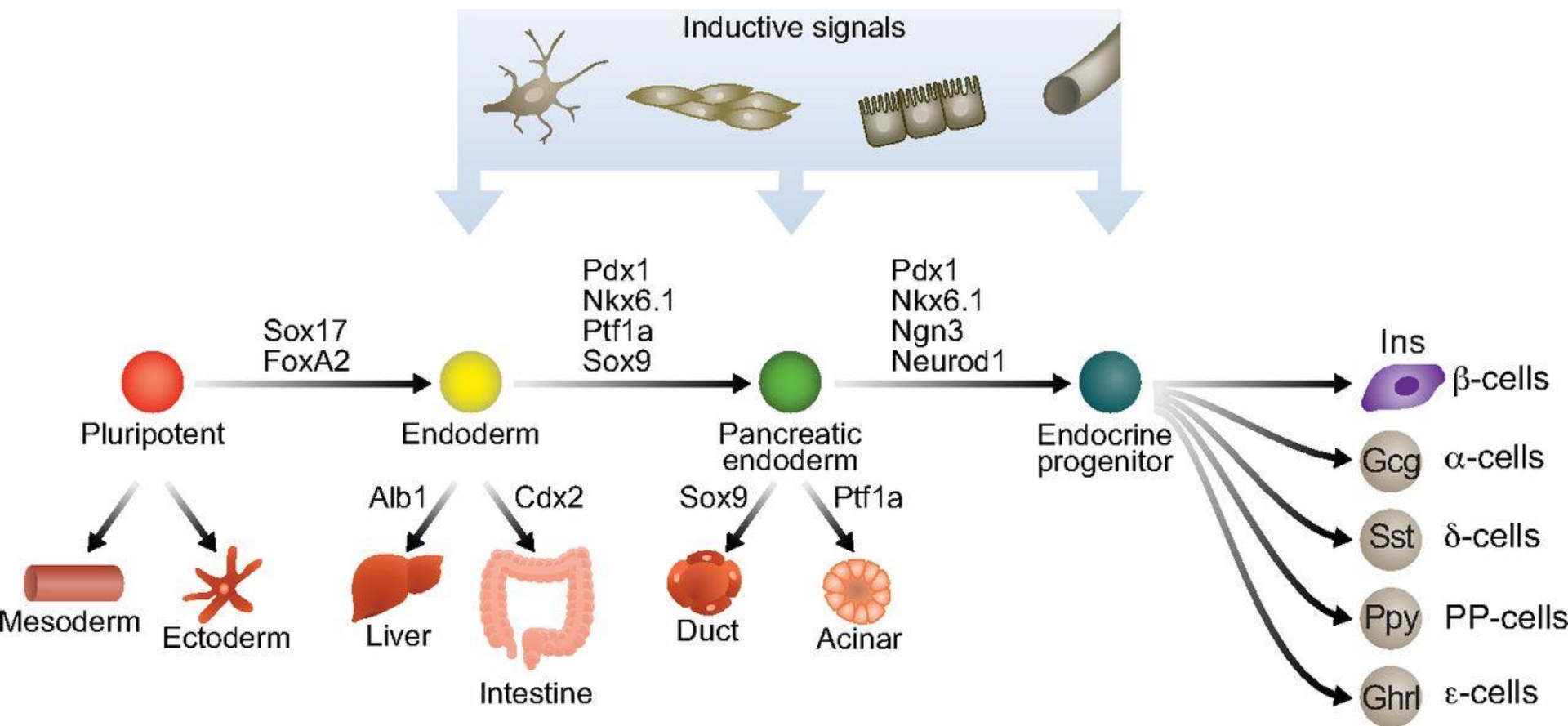


Buněčné přeprogramování

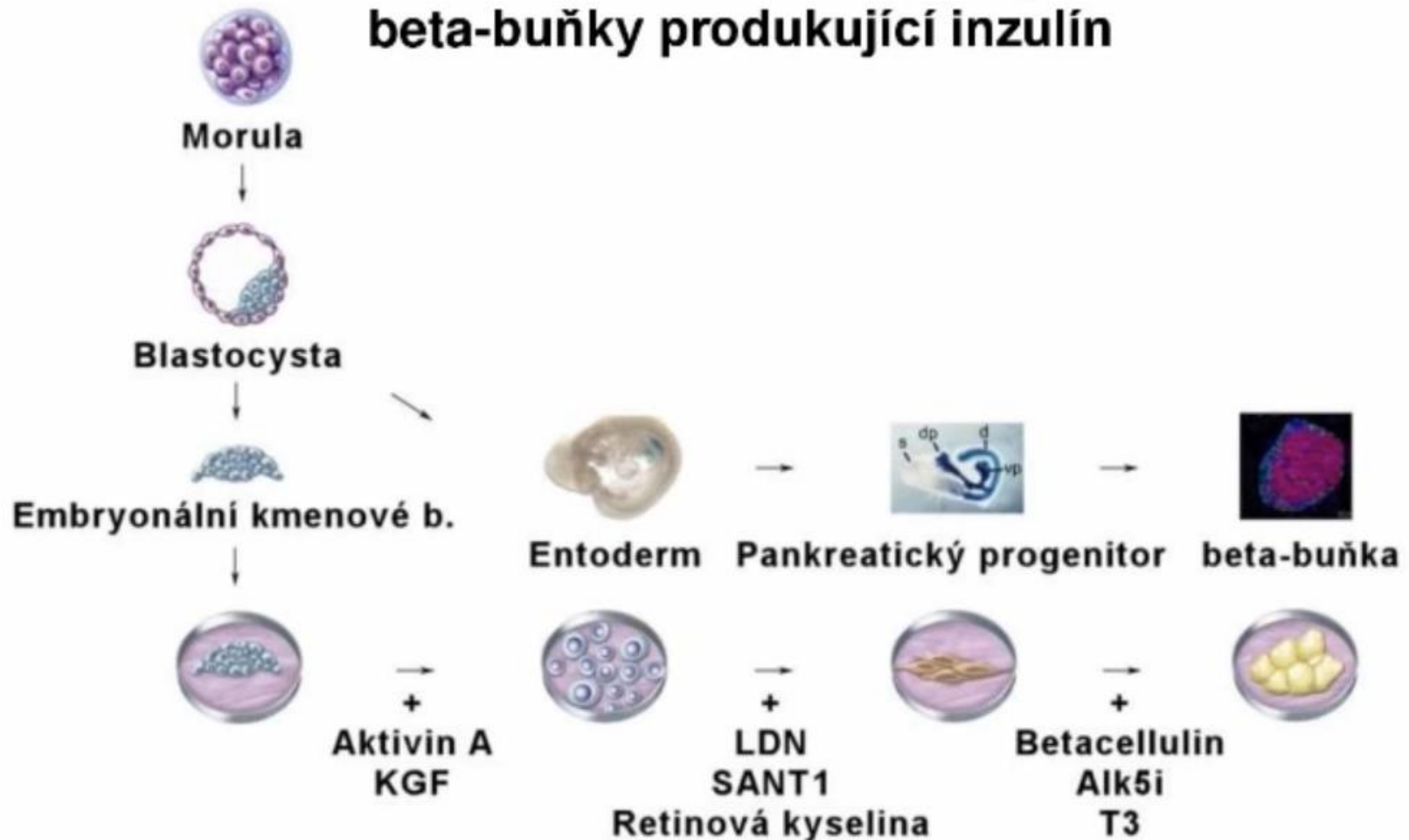
- stimulovaná přeměna
pankreatických nebo jaterních
buněk na beta-buňky



Inzulín produkující beta buňky dostupné v dostatečné kvalitě a množství

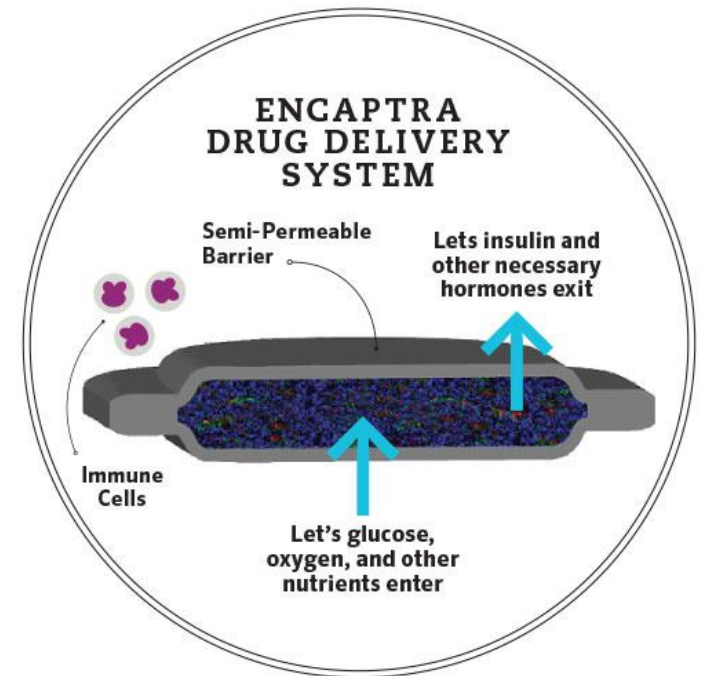


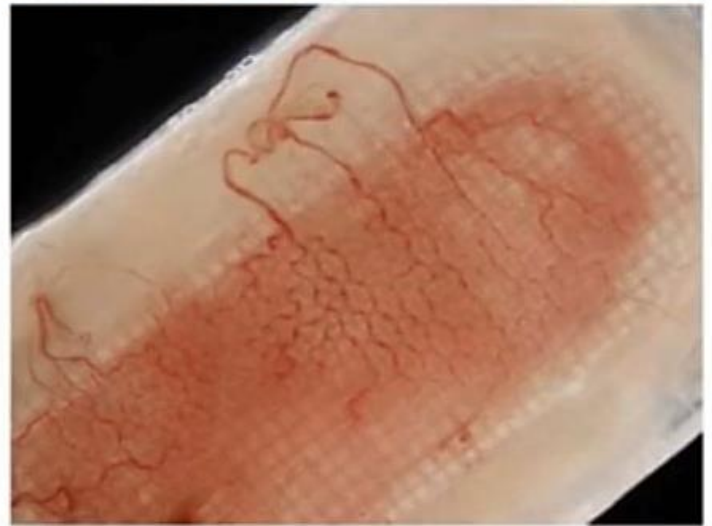
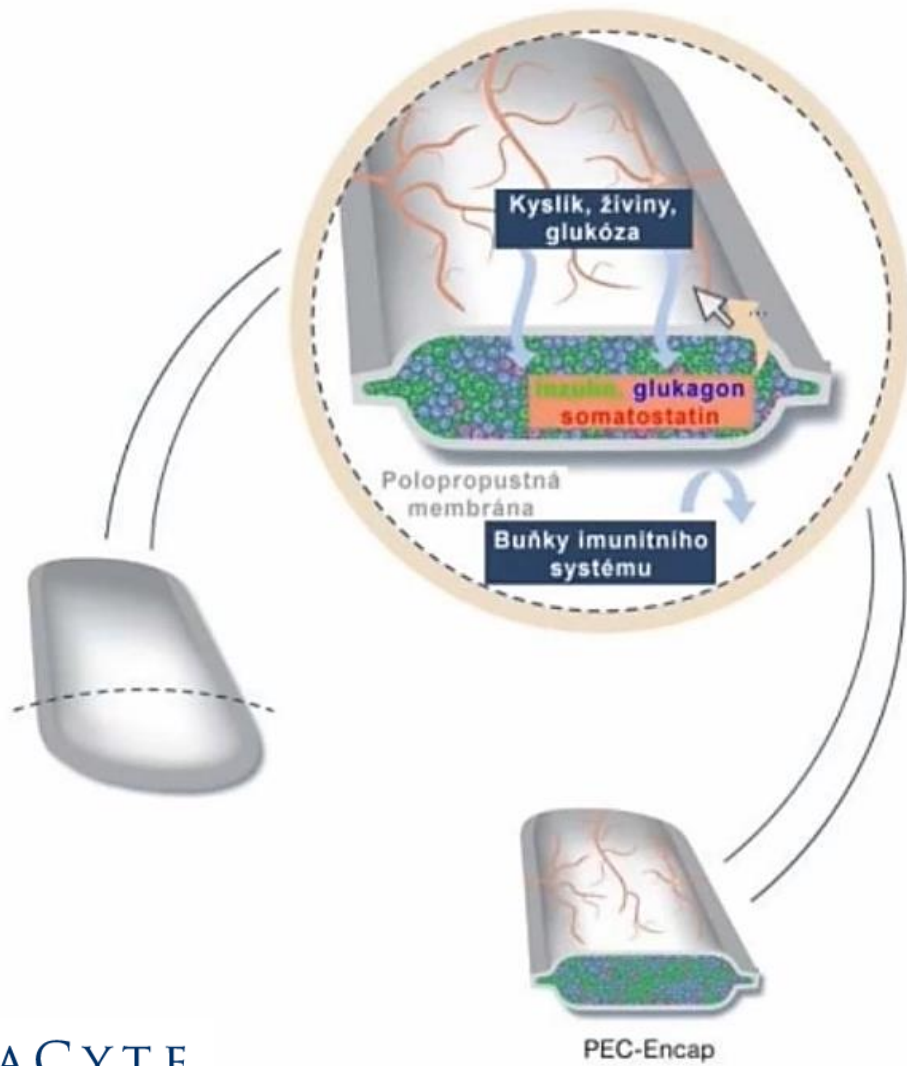
Diferenciace embryonálních kmenových buněk na beta-buňky produkující inzulín

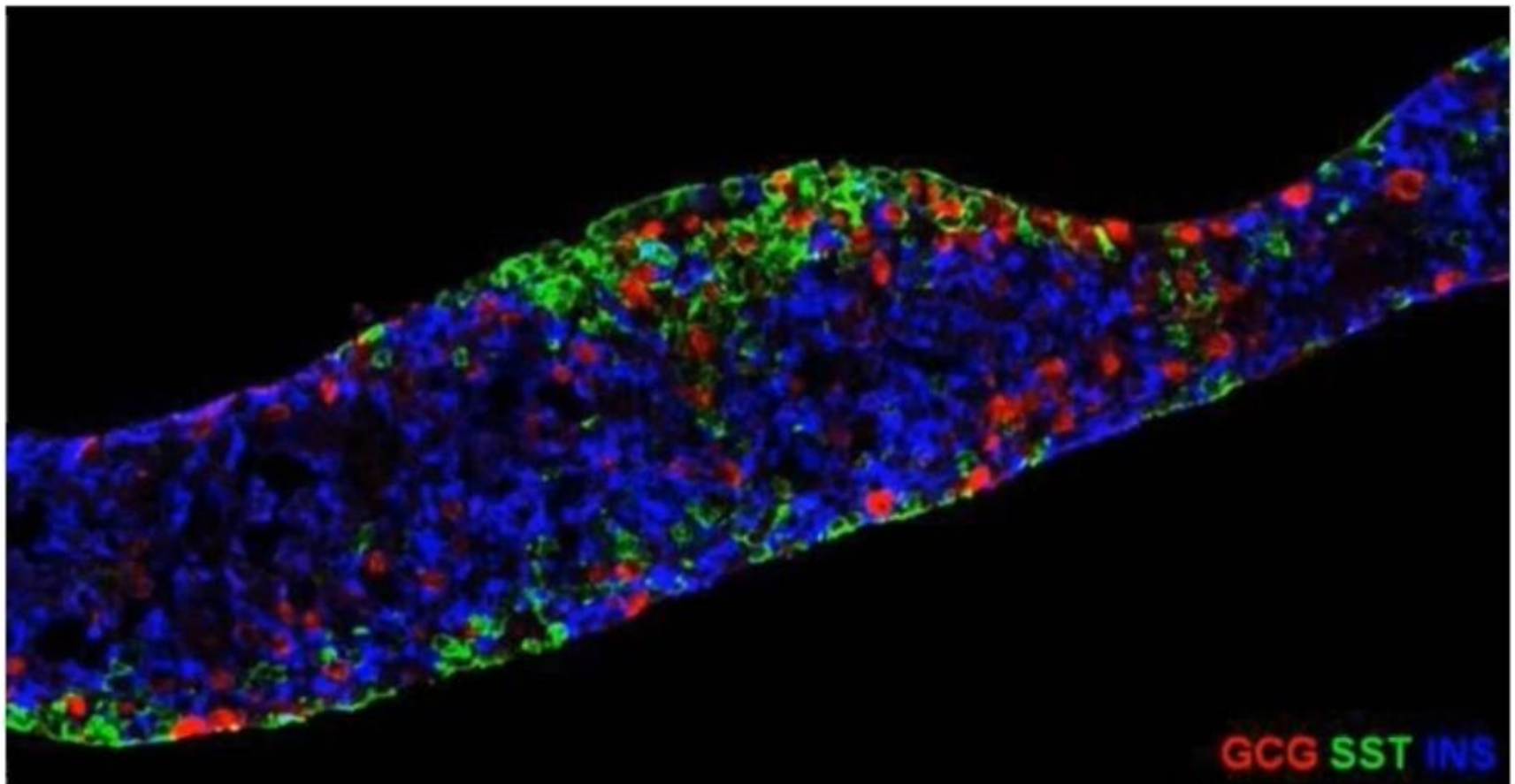


Problémy použití ESC

- Buňky nejsou tělu vlastní → reakce imunitního systému proti štěpu
- Řešení: ePTFE váčky
 - Umožňují průchod kyslíku a dalších látek (průnik cév)
 - **Neprostupný pro buňky imunitního systému**





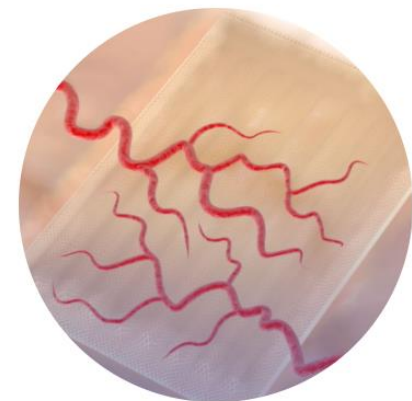


Enkapsulované pankreatické endokrinní buňky získané z lidských embryonálních kmenových buněk: **inzulín (INS, modrá)**
glukagon (GCG, červená) somatostatin (SST, zelená)

Další způsoby dopravení inzulin-prdukujících buněk do těla

- Implantabilní pouzdro pro terapeutické buňky
- terapeutické buňky obsahující inzulin-produkující buňky jsou injekčně vpraveny do implantátu v rámci 15-min ambulantního zákroku
- Nedochoází ke vzniku fibrózy
- Úspěšně použito pro léčbu hemofilie B (deficit faktoru IX)

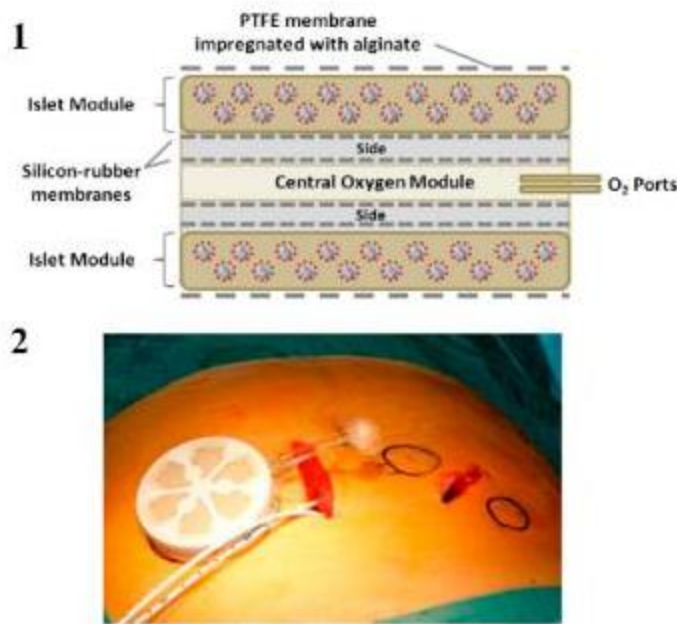
Sernova's Cell Pouch System™



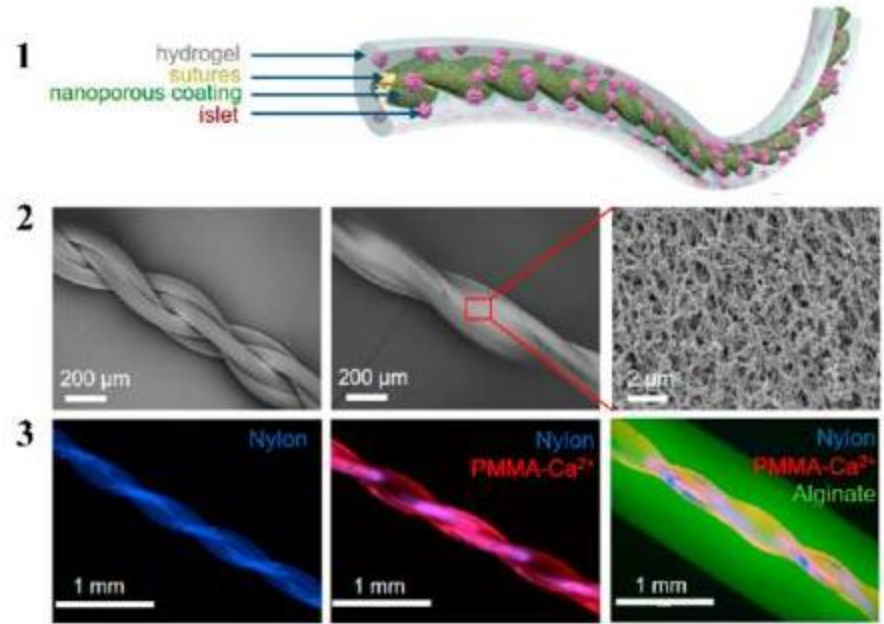
Enkapsulační strategie a výzkumy současnosti

Company Name	Key Company Information
 VIACYTE Regenerating Health™	Type: Macroencapsulation Development Stage: Phase I/II Additional Note: Trial was paused in 2017, plans to resume in 2018 JDRF Funded
 BetaO ₂ TECHNOLOGIES	Type: Macroencapsulation Development Stage: Phase I/II JDRF Funded
 Sernova Corp	Type: Microencapsulation Development Stage: Phase I/II JDRF Funded
 LCT™ living cell technologies™	Type: Microencapsulation Development Stage: Phase II Additional Note: In January 2018, LCT sold its 50% shareholding in joint venture company Diatranz Otsuka Limited (DOL) to Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc. JDRF Funded
 sigilon therapeutics	Type: Microencapsulation Development Stage: Animal Testing JDRF and Eli Lilly Funded
 seraxis	Type: Macroencapsulation Development Stage: Large Animal Testing
 PHARMACYTE BIOTECH	Type: Microencapsulation Development Stage: Animal Testing
 EN CELL IN	Type: Macroencapsulation Development Stage: Animal Testing
 semma THERAPEUTICS	Type: Macroencapsulation Development Stage: Animal Testing
 Cornell University	Type: Microencapsulation Development Stage: Animal Testing JDRF Funded and Novo Nordisk Funded
 THE UNIVERSITY OF ARIZONA	Type: Macroencapsulation Development Stage: Animal Testing JDRF Funded
 UNIVERSITY OF WOLLONGONG AUSTRALIA	Type: Macroencapsulation Development Stage: Lab Testing

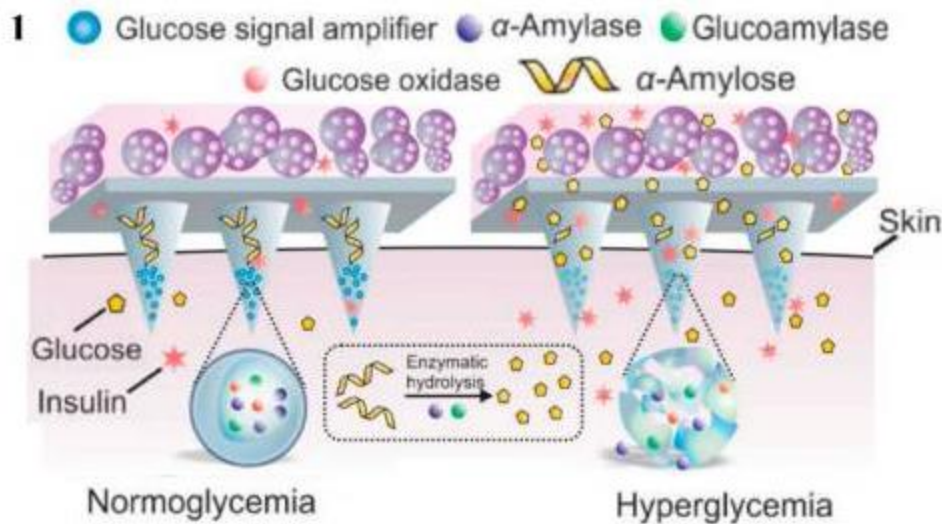
A)



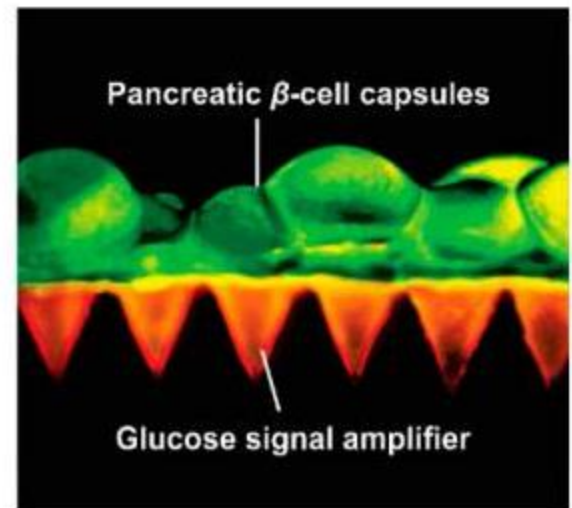
B)

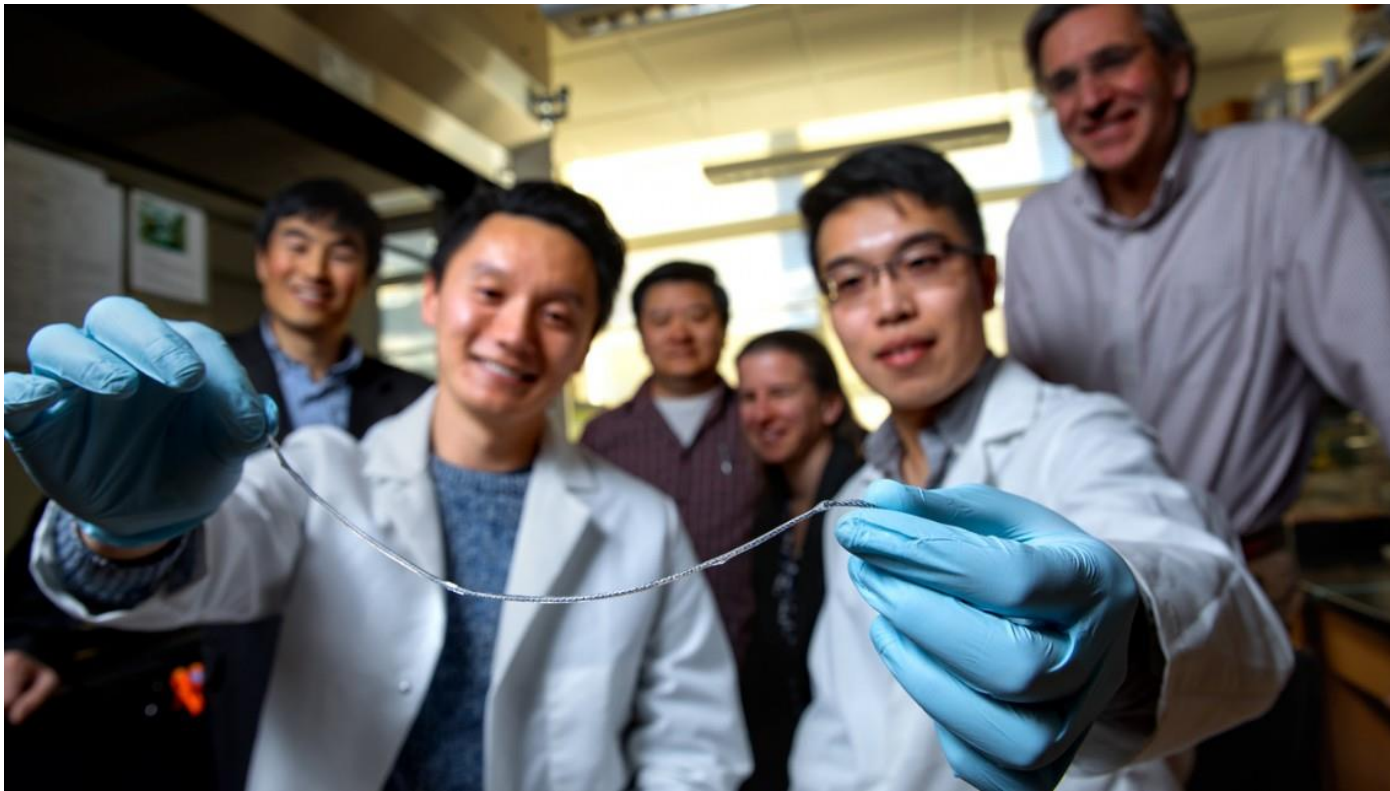


C)



2



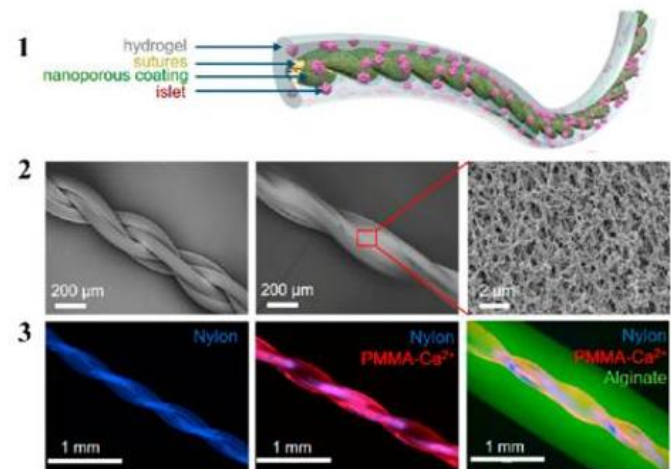


Designing a retrievable and scalable cell encapsulation device for potential treatment of type 1 diabetes

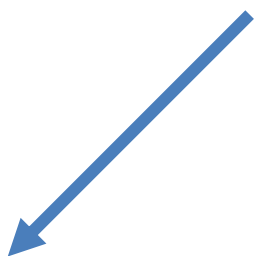


Duo An, Alan Chiu, James A. Flanders, Wei Song, Dahua Shou, Yen-Chun Lu, Lars G. Grunnet, Louise Winkel, Camilla Ingvorsen, Nicolaj Strøyer Christophersen, Johannes Josef Fels, Fredrik Wolfhagen Sand, Yewei Ji, Ling Qi, Yehudah Pardo, Dan Luo, Meredith Silberstein, Jintu Fan, and Minglin Ma

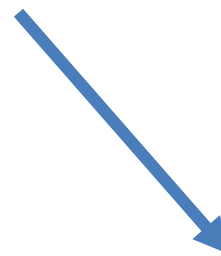
PNAS January 9, 2018 115 (2) E263-E272; published ahead of print December 26, 2017
<https://doi.org/10.1073/pnas.1708806115>



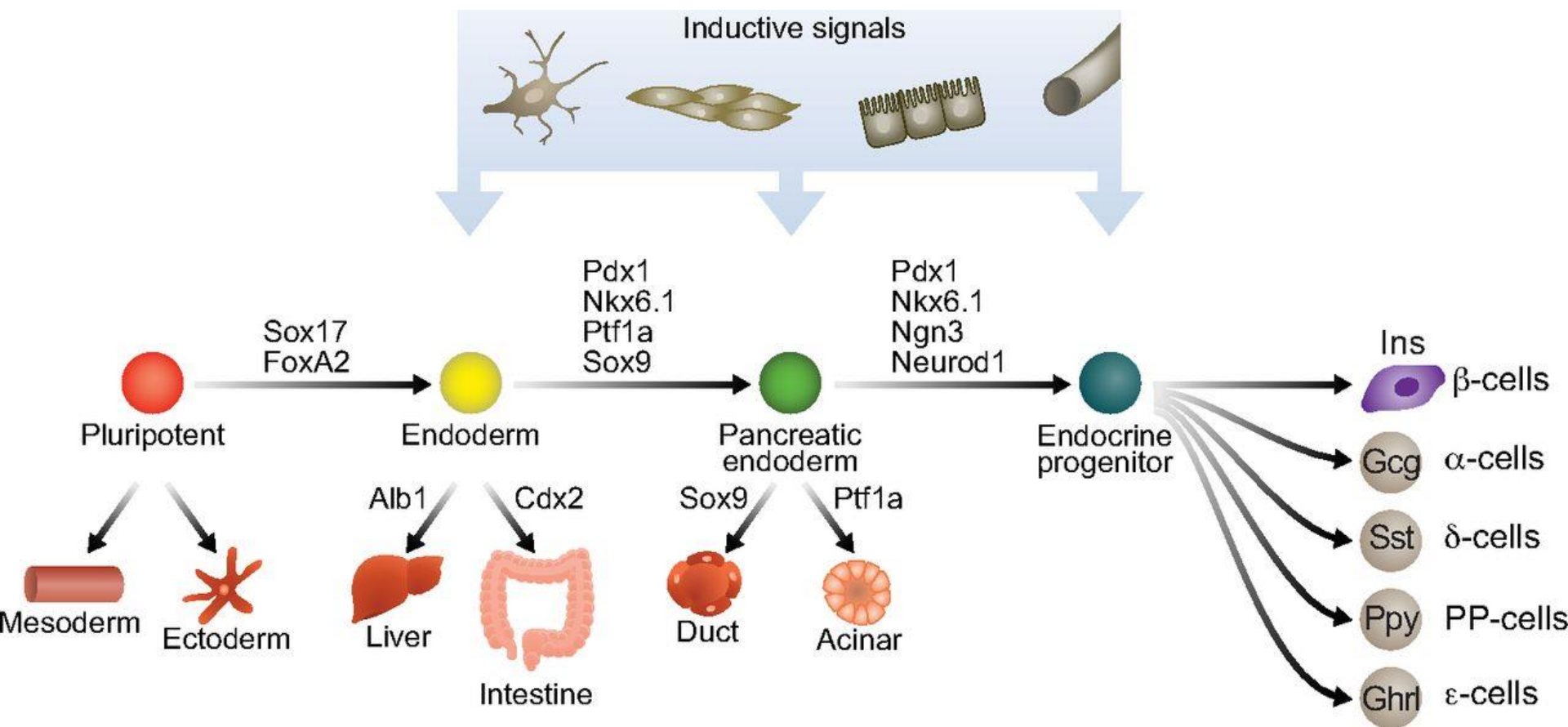
Na co se zaměřují výzkumy probíhající v ČR?



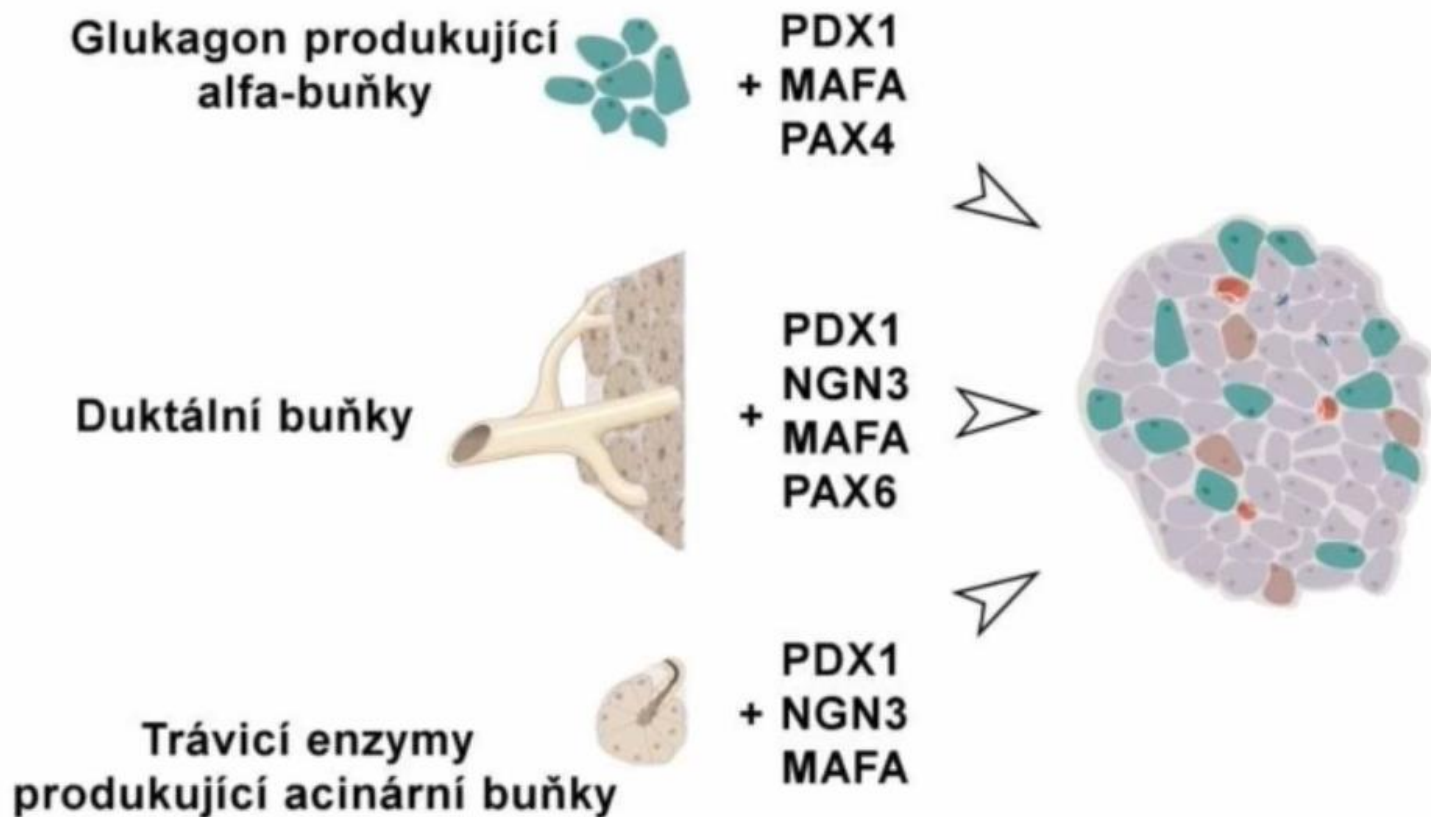
Buněčné
přeprogramování

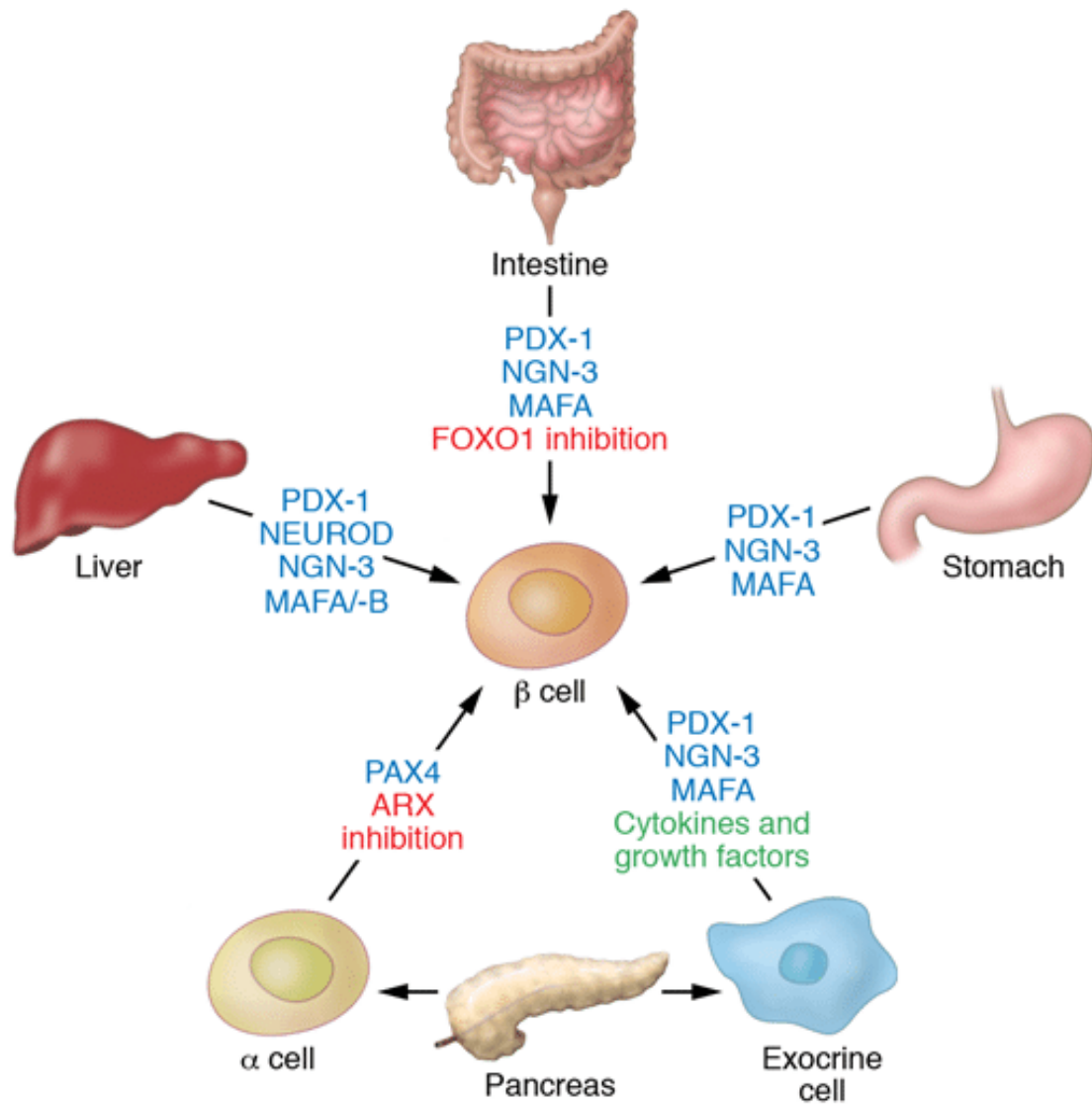


Množení vlastních
beta buněk

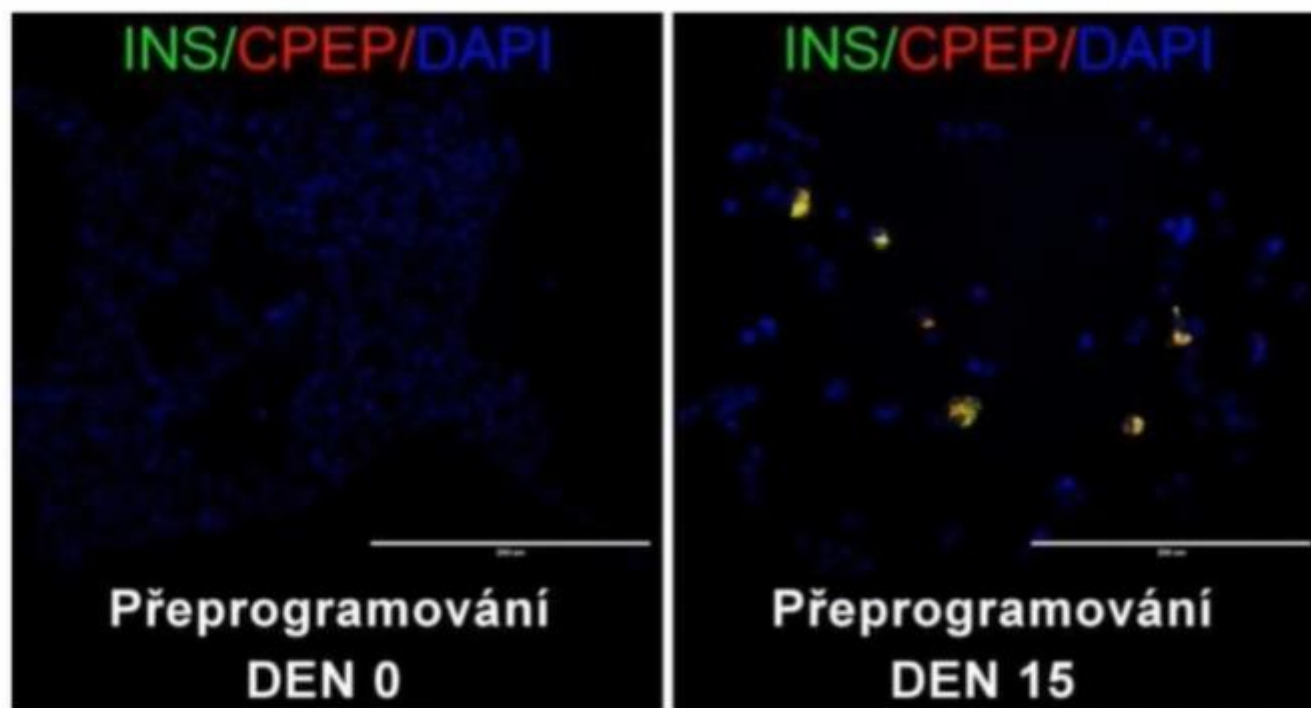


Přeprogramování pankreatických buněk na buňky produkující inzulin





Přeprogramování pankreatických duktálních buněk na inzulín-produkující buňky pomocí NEUROG3 mRNA



0%

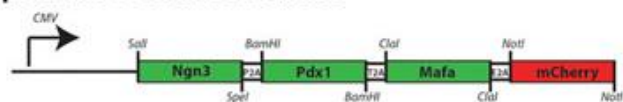
$4.6 \pm 1.2 \%$

inzulín pozitivních buněk

linker 2A sequence

```
SalI   SpeI  
GTCGAC ACTAGT GCCACGAACTTCTCTGTAAAGCAAGCAGGAGATGTTGAAGAAA  
P2A  
ACCCCGGCCT GGATCC GAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGG  
T2A  
AGAATCCCGGCCT ATCGAT CAGTGTACTAATTATGCTCTTTGAAATTGGCTGGAGAT  
E2A  
GTTGAGAGCAACCCAGGTCCC GCGGCCGC
```

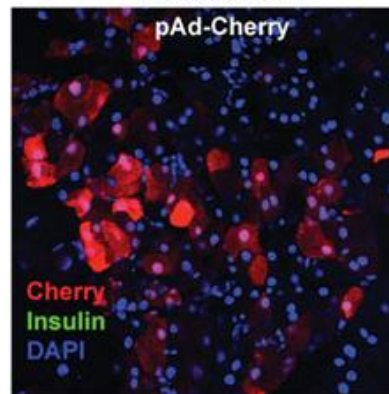
pAd-M3C viral construct



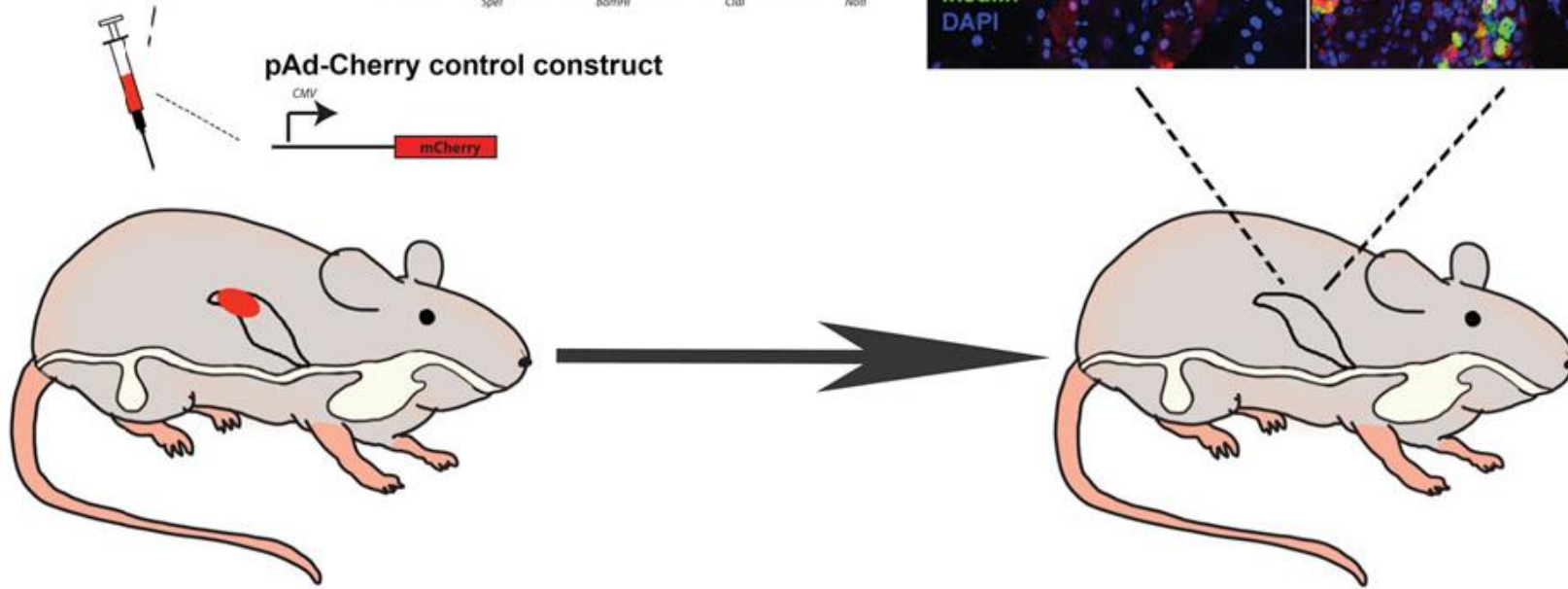
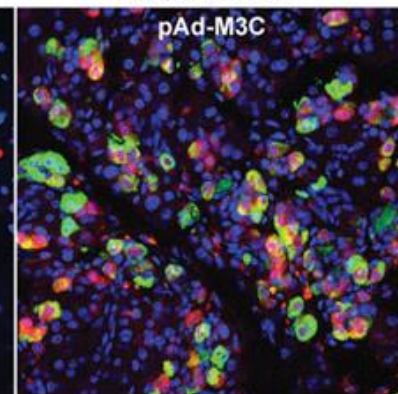
pAd-Cherry control construct



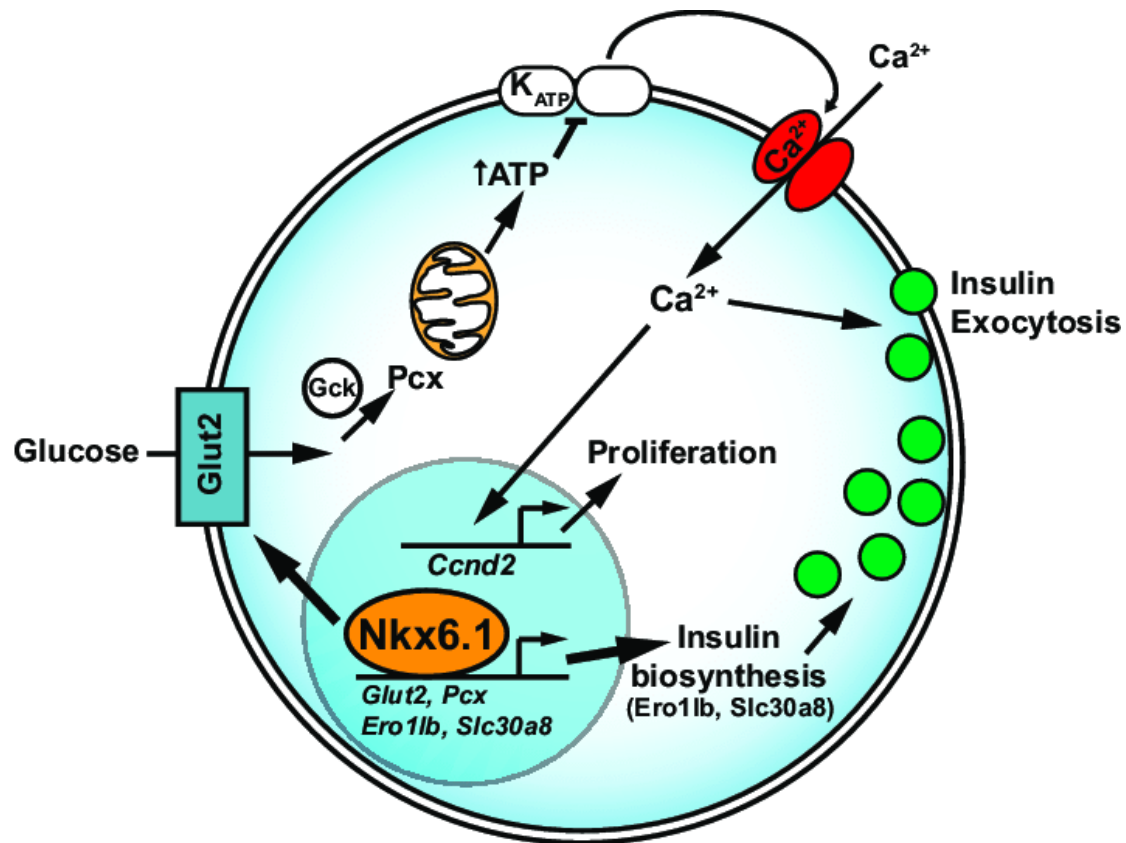
control animal
treated with



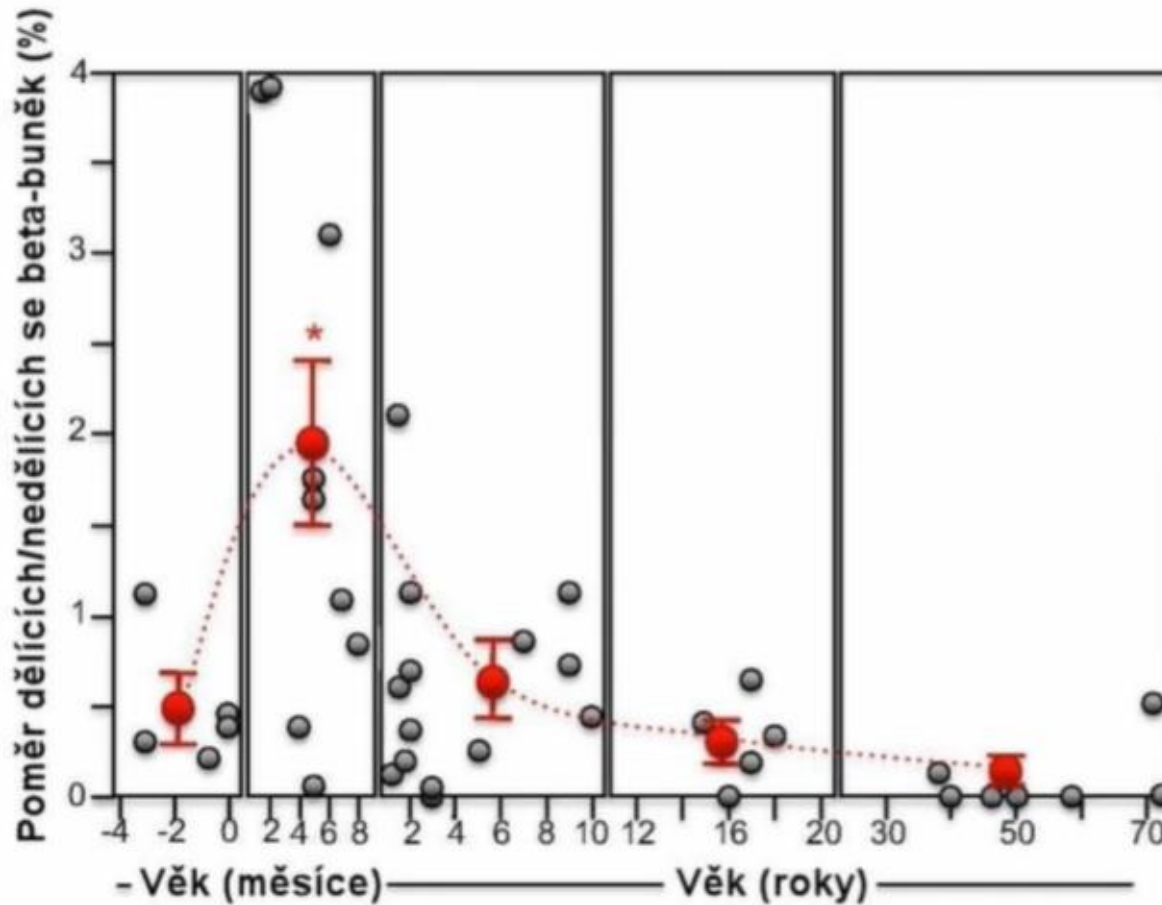
experimental animal
treated with



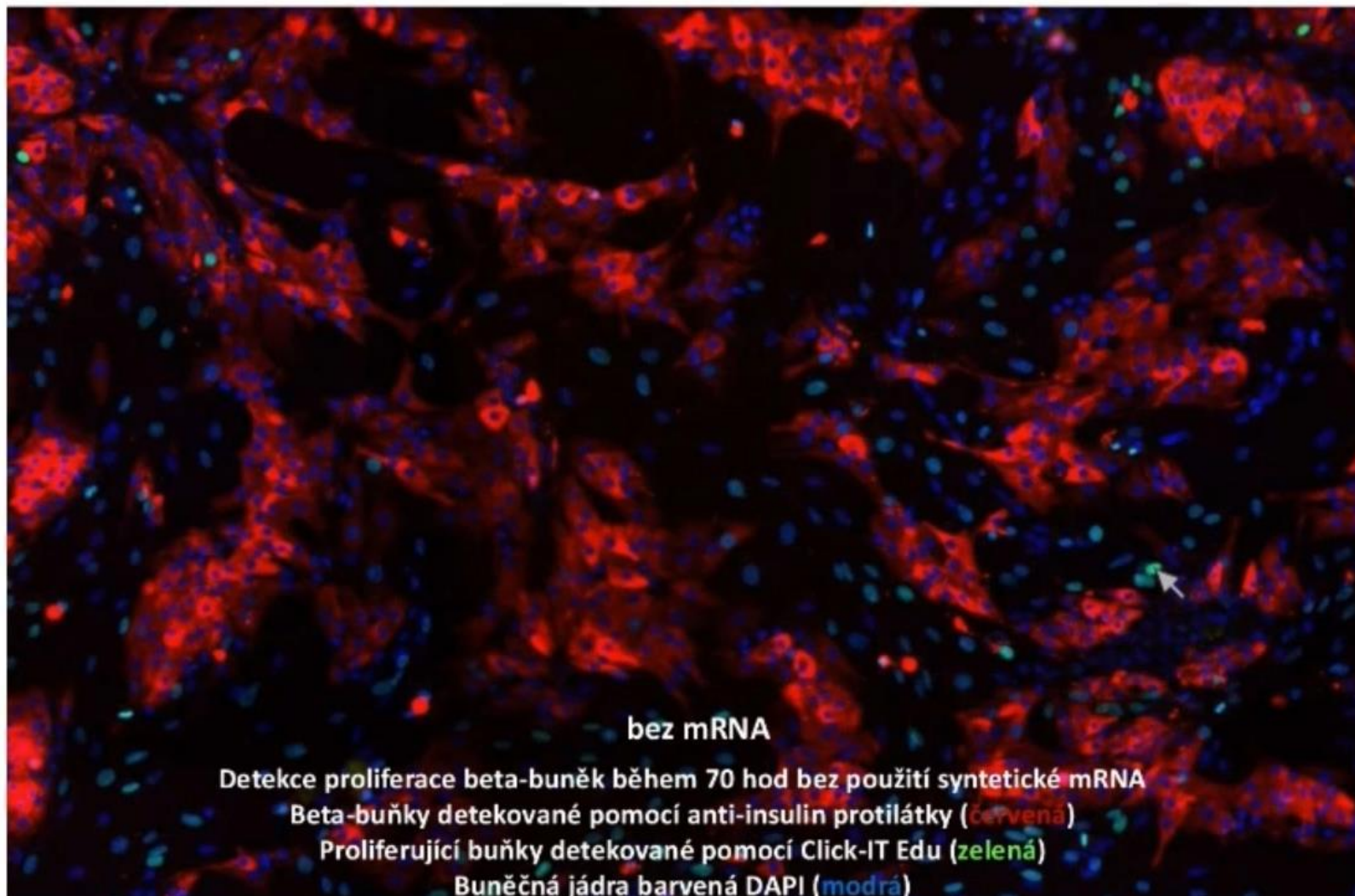
Množení vlastních beta buněk



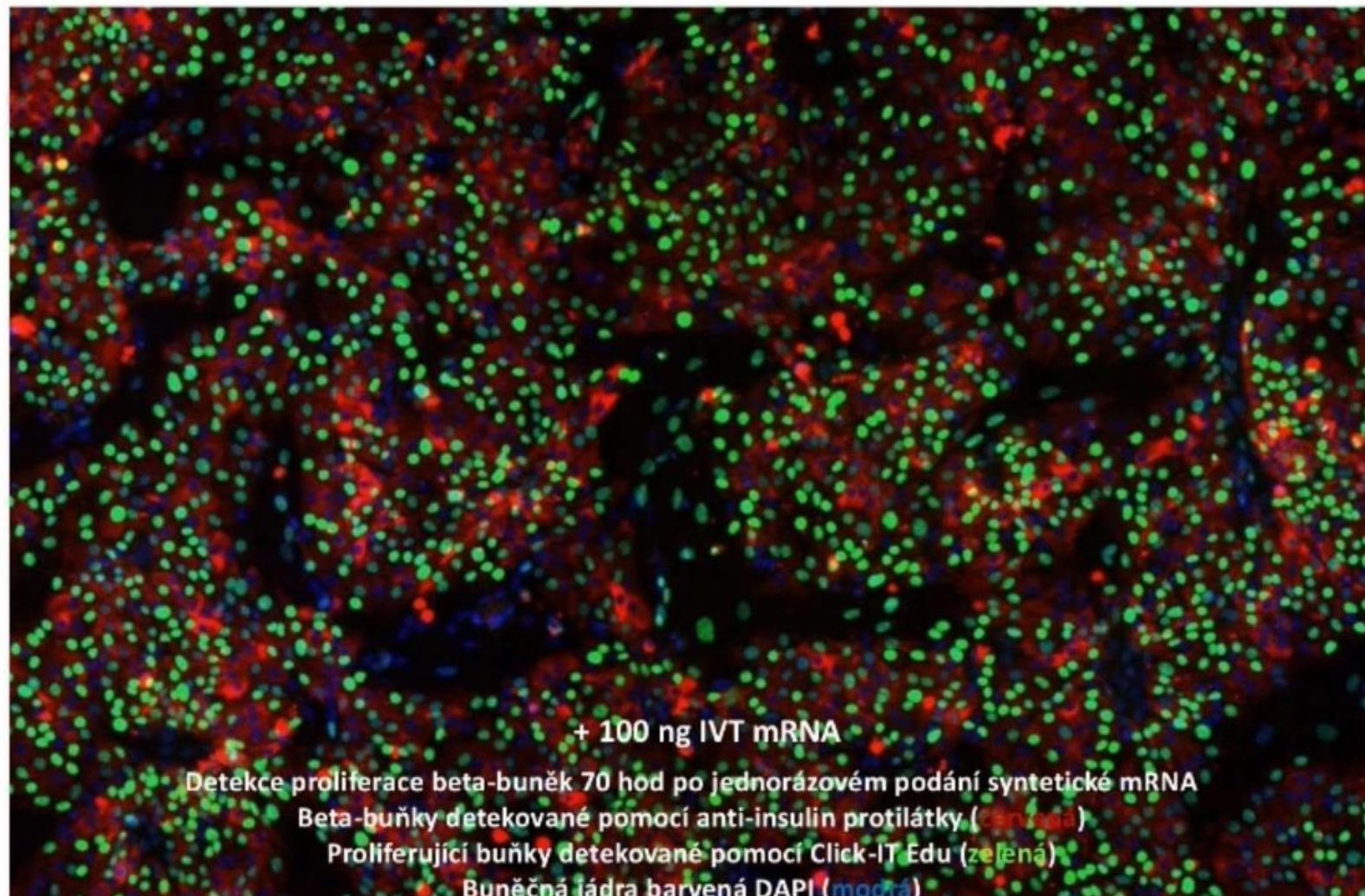
Míra buněčného dělení lidských beta buněk během života



Proliferace beta-buněk (bez mRNA)



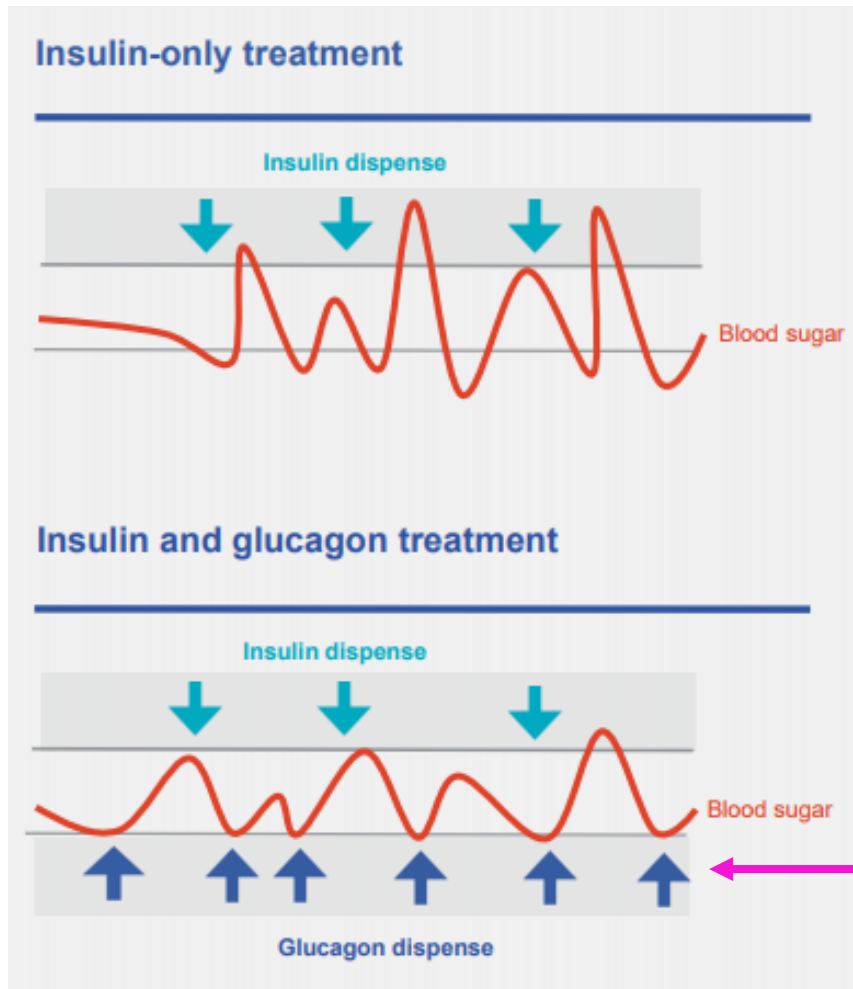
Proliferace beta-buněk (vyvolaná IVT mRNA)



Moderní technologie



„Dual-hormone“ OR „Insulin-only“



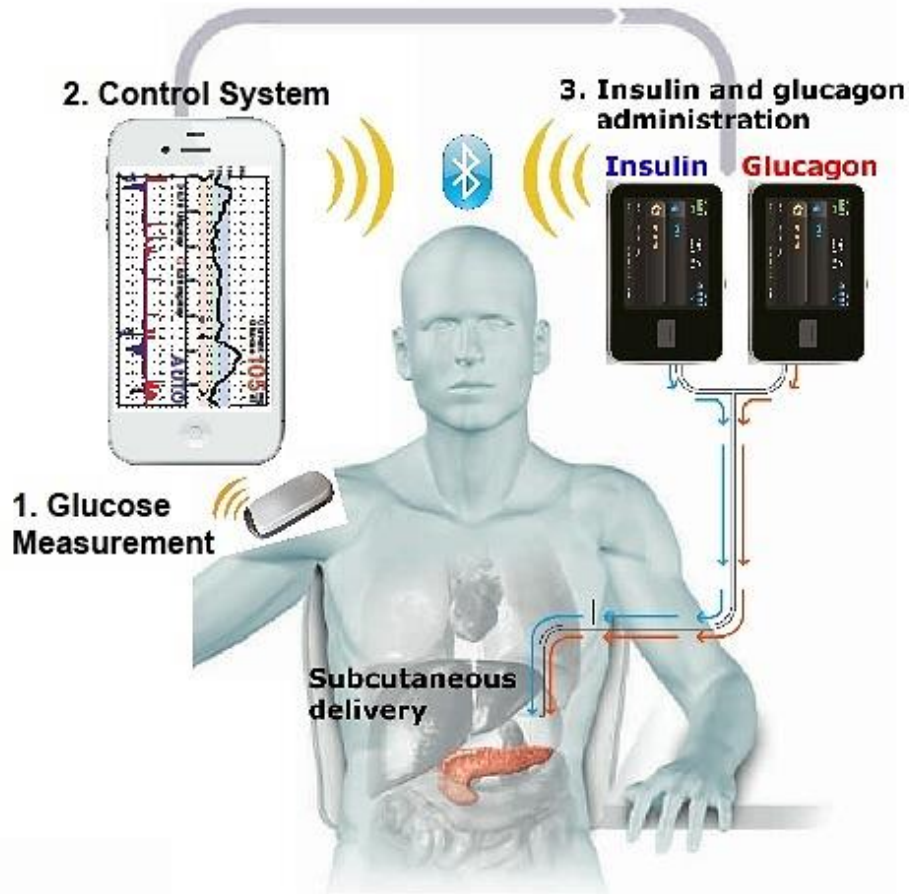
hlavní pointa:
snížení rizika
hypoglykémie

Bionický pankreas

- Kombinace hormonů inzulínu a glukagonu
- **Hlavní výhoda**: snížení četnosti hypoglykemických stavů
- CGM + pumpa (dvoukomorová) + smartphone
- Doposud není znám negativní efekt dlouhodobého užívání glukagonu



Bionický pankreas



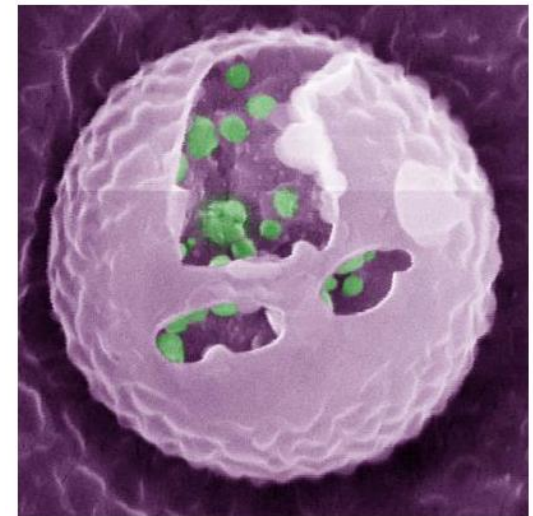
iLet

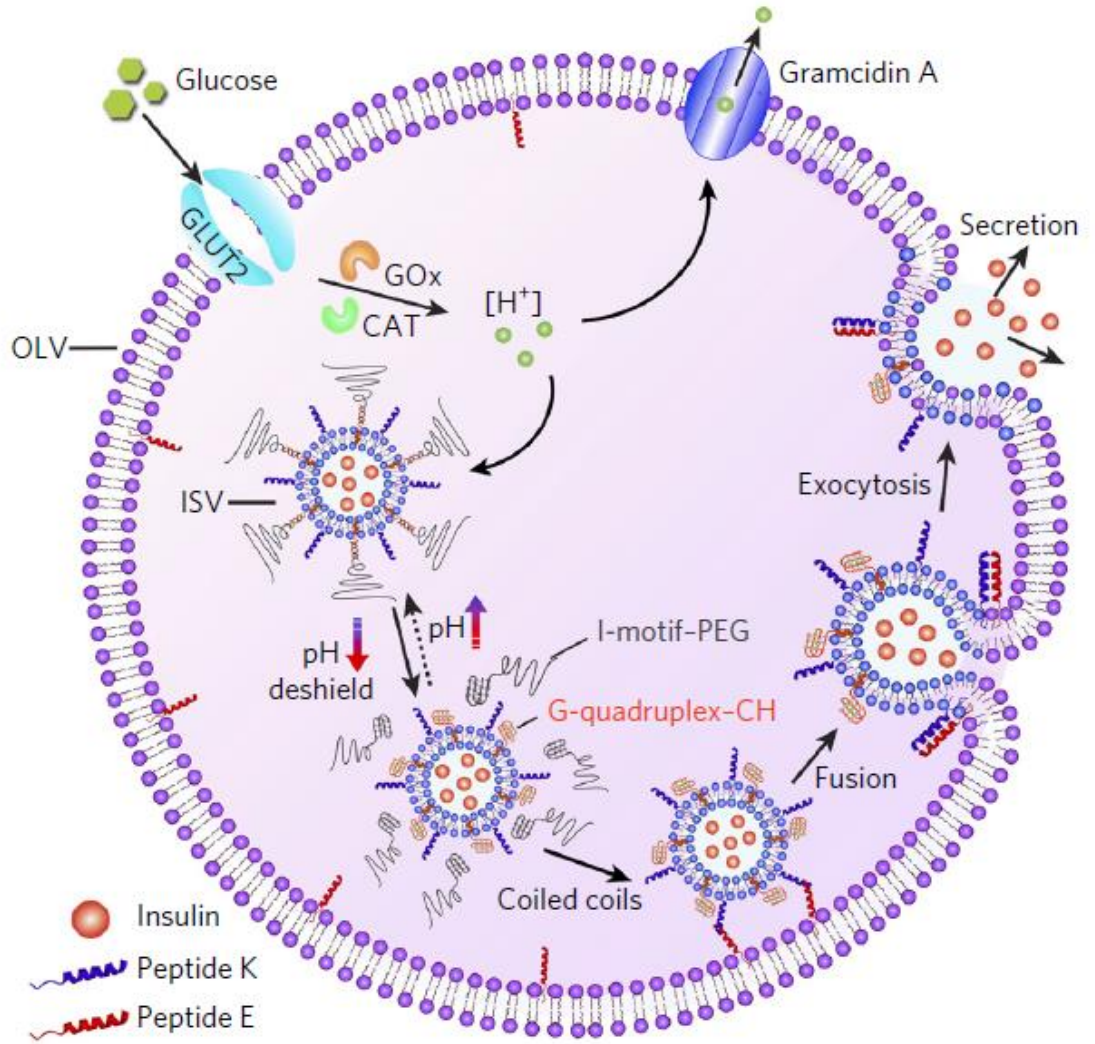
- 4. generace bionického pankreasu
- Testování v rámci klinických studií
 - CGM: Dexcom, Eversense
- 2 cartridge integrované do 1 zařízení
 - Inzulín, glukagon – výdrž 6 dní



„Umělé“ beta buňky (arteficial beta cells) - ABCs

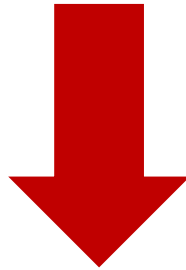
- Univerzita v Severní Karolině
- Buňky obsahující váčky plné inzulinu
- Reagují na změnu koncentrace glukózy
- Zvýšení koncentrace glukózy vede k fúzi váčku s membránou
- V současné době úspěšné testy na myších modelech





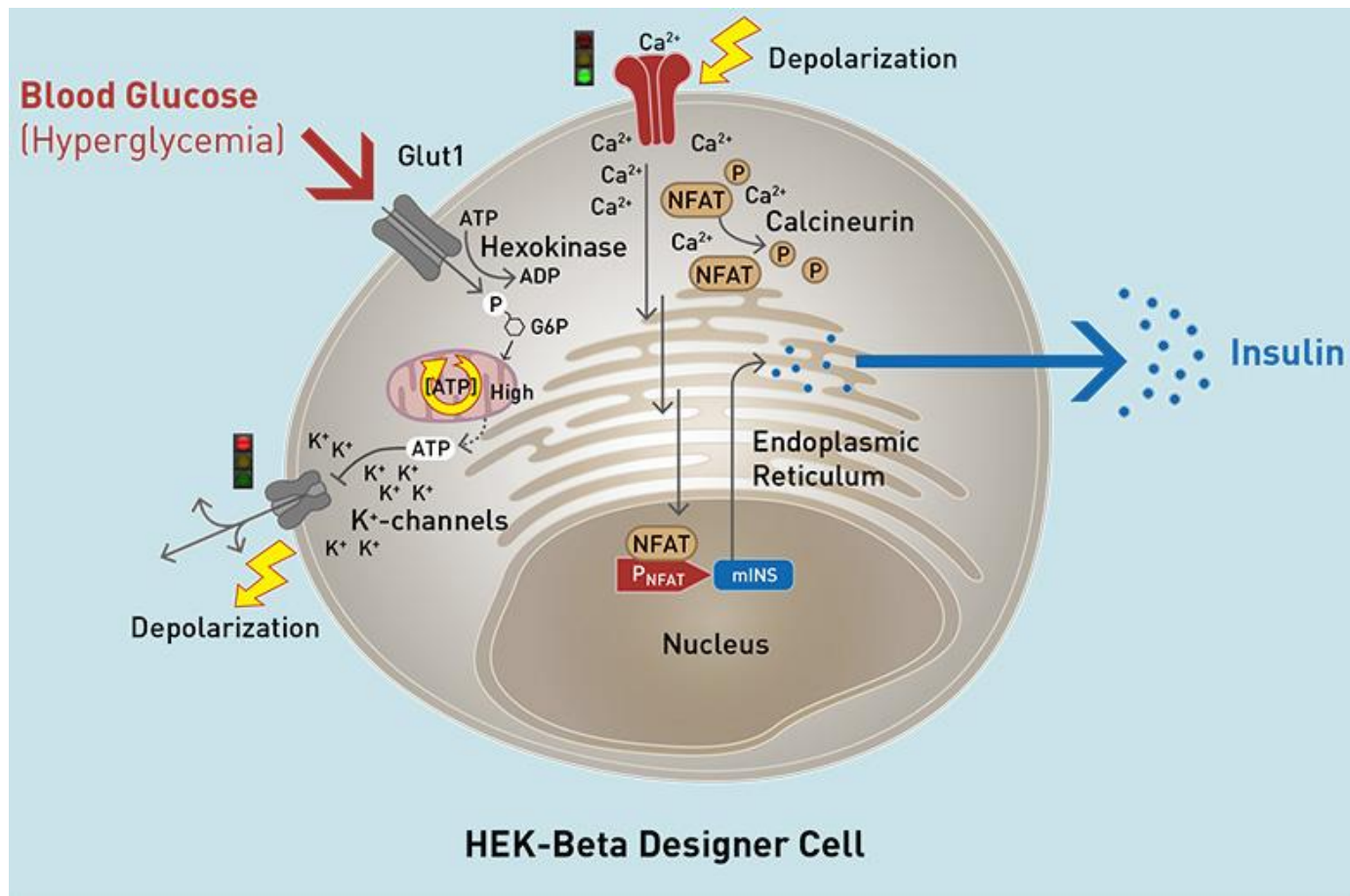
ABCs

- hlavní výhoda:
 - buňky lze „transplantovat“ subkutánně injekčně ve formě gelu nebo skrze náplasti s „mikrojehličkami“



není nutná imunosupresivní léčba

HEK-beta buňky



Děkuji za pozornost!

Aneta Buchtelová
aneta.buchtelova@gmail.com

Centrum podpory aplikačních výstupů a
spin-off firem
1. LF UK

Moderní technologie v diabetologii
Zimní semestr 2020/21

Zdroje

- <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2013/1-2013/Syndrom-poruseneho-vnimani-hypoglykemie-a-moznosti-jeho-lecby/e-1pe-1pf-1r2.magarticle.aspx>
- <https://www.diabetesresearch.org/BioHub>
- <http://www.eurostemcell.org/factsheet/diabetes-how-could-stem-cells-help>
- Home use of a bi-hormonal bionic pancreas versus insulin pump therapy in adults with type 1 diabetes: a multicentre randomised crossover trial. El-Khatib FH, Balliro C, Hillard MA, Magyar KL, Ekhlaspour L, Sinha M, Mondesir D, Esmaeili A, Hartigan C, Thompson MJ, Malkani S, Lock JP, Harlan DM, Clinton P, Frank E, Wilson DM, DeSalvo D, Norlander L, Ly T, Buckingham BA, Diner J, Dezube M, Young LA, Goley A, Kirkman MS, Buse JB, Zheng H, Selagamsetty RR, Damiano ER, Russell SJ. *Lancet*. 2016 Dec 20. pii: S0140-6736(16)32567-3. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32567-3. [Epub ahead of print]. dx.doi.org/10.1038/nchembio.2511
- <http://www.sernova.com/technology/>
- <https://www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/bionic-pancreas-treats-adults-type-1-diabetes>
- http://innox.au.dk/fileadmin/user_upload/Medical_Innovation_Challenge_Diabetes_management_with_an_artificial_pancreas_Zealand_Pharma_2017_Aug.pdf
- Taylor, Brandon & Liu, Fen-Fen & Sander, Maïke. (2013). Nkx6.1 Is Essential for Maintaining the Functional State of Pancreatic Beta Cells. *Cell reports*. 4. 10.1016/j.celrep.2013.08.010.
- <https://viacyte.com/pec-01-cells/>
- <https://www.healthline.com/diabetesmîne/beta-bionics-ilet-update#8>
- Espona-Noguera A, Ciriza J, Cañibano-Hernández A, et al. Review of Advanced Hydrogel-Based Cell Encapsulation Systems for Insulin Delivery in Type 1 Diabetes Mellitus. *Pharmaceutics*. 2019;11(11):597. Published 2019 Nov 12. doi:10.3390/pharmaceutics11110597
- <https://ethz.ch/en/news-and-events/eth-news/news/2016/12/artificial-beta-cells.html>
- <http://thejdca.org/2019-encapsulation-overview>
- Cavelti-Weder C, Zumsteg A, Li W, Zhou Q. Reprogramming of Pancreatic Acinar Cells to Functional Beta Cells by In Vivo Transduction of a Polycistronic Construct Containing Pdx1, Ngn3, MafA in Mice. *Curr Protoc Stem Cell Biol*. 2017 Feb 2;40:4A.10.1-4A.10.12. doi: 10.1002/cpsc.21. PMID: 28152182; PMCID: PMC5821133.

Videa na přestávku :)

<https://www.youtube.com/watch?v=eIBhzlelwhI>

<https://www.youtube.com/watch?v=96Ty11M5CCU>