Endocrinol Diabetes Nutr. 2022;69(Espec Cong 1):40

Endocrinología, Diabetes y Nutrición

CO-041 - EL BLOQUEO DEL RECEPTOR DE CANNABINOIDE 1 FRENA LA INSULITIS Y PROTEGE EL ISLOTE EN UN NUEVO MODELO *EX VIVO* DE INFLAMACIÓN EN ISLOTES HUMANOS

I. González Mariscal[a], *V. Gmyr*[b,c,d,e], *F. Bermúdez Silva*[a,f], *J. Kerr-Conte*[b,c,d,e], *F. Pattou*[b,c,d,e], *J. Egan*[h] *y M. Ruiz de Adana*[a,f,g]

[a]*Instituto de Investigacion Biomédica de Málaga (IBIMA), Málaga.* [b]*Universite de Lille, Lille, Francia,* [c]*CHU Lille, Lille, Francia,* [d] *INSERM, Lille, Francia,* [e]*European Genomic Institute of Diabetes (EGID), Lille, Francia,* [f]*CIBERDEM, Málaga.* [g]*Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga.* [h]*National Institute of Health, Baltimore, EE. UU.*

Resumen

Introducción: La insulitis es un evento patológico que precede a la diabetes de tipo 1 (DT1), en el que las células inmunes infiltran los islotes, llevando a la destrucción progresiva de las células beta productoras de insulina. El receptor de cannabinoide 1 (CB1R), presente en células beta y en células inmunes entre otros, es un regulador del metabolismo y la respuesta inmune, y datos de secuenciación lo identifican como el mayor regulador activado en páncreas de donantes positivos para autoanticuerpos. Previamente describimos que la ablación génica de CB1R en células beta es suficiente para prevenir la insulitis en ratón.

Objetivos: Investigar el papel del CB1R en el proceso de insulitis en humanos y la capacidad de la intervención farmacológica para prevenir este proceso patológico mediante el bloqueo de CB1R.

Material y métodos: Se extrajo ARN de linfocitos T CD4+ aislados de células mononucleares periféricas de sangre (PBMCs) de pacientes debutantes en DT1 o sanos (n = 11-16/grupo). La expresión de CB1R se analizó mediante PCR a tiempo real. Islotes humanos de donantes cadavéricos se cultivaron en 3D en Matrigel. PBMCs del mismo donante se tiñeron con Cell-Trace-CFSE. Islotes solos o en co-cultivo con PBMCs se insultaron con citoquinas (IL1b, TNFa, IFNg) durante 24-48h en presencia de vehículo o JD5037, un inhibidor de CB1R. Se determinaron las actividades de proteasas de muerte celular y caspasa 3, la producción de especies reactivas del oxígeno (H_2O_2) y del nitrógeno (NO) (con MitoSOX, DAF-FM) y la función mediante secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) por perifusión. La infiltración de células inmunes en los islotes se determinó por conteo en microscopio de fluorescencia.

Resultados: Linfocitos CD4+ de pacientes en debut de DT1 expresan 1,52 veces más CB1R que los de control (p 0,05). En islotes, el insulto con citoquinas indujo la producción de H_2O_2 y NO, procesos de muerte celular y disfunción del islote, con una reducción de la GSIS del 20%. Las citoquinas indujeron la infiltración dirigida de células inmunes específicamente a islotes. Tratamiento con 10-100 nM de JD5037 previno la producción de NO pero no de H_2O_2 ni el incremento de actividad caspasa 3, y 10 nM previno la muerte celular inducida por citoquinas. JD5037 10 nM no solo previno la pérdida de función del islote por citoquinas, sino que aumentó la GSIS un 52%. JD5037 a 10 nM redujo significativamente un 43% la infiltración de células inmunes, y a 100 nM previno la infiltración por completo hasta 6 días después del insulto.

Conclusiones: La inhibición de CB1R previene la insulitis en humanos, protegiendo la viabilidad y función del islote. Nuestros datos describen, por primera vez, a CB1R como diana terapéutica para la DT1, y elucidan el mecanismo de regulación de la insulitis.

© 2022 SEEN y SED. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.