



CO-013 - EL RECEPTOR CB1R ES UN REGULADOR CLAVE DE LA INTERACCIÓN ENTRE LAS CÉLULAS BETA Y LAS CÉLULAS INMUNES EN EL INICIO DE LA INSULITIS

E. Wrevent^a, M.S. Ruiz de Adana^{b,c}, J. Kerr-Conte^a, F. Pattou^a e I. González Mariscal^{a,b,c}

^aTranslational Research for Diabetes, Inserm Umr1190, Institut Pasteur de Lille, CHU de Lille, Université de Lille, Lille, Francia. ^bCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III, Málaga, España. ^cServicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Regional Universitario de Málaga, IBIMA Plataforma BIONAND, Málaga, España.

Resumen

Introducción: La insulitis, proceso de inflamación característico que precede a la diabetes autoinmune tipo 1 (DT1), conduce a la pérdida final de células beta funcionales. El receptor cannabinoide de tipo 1 (CB1R), presente en células inmunitarias y células beta, regula la inflamación y la función de las células beta. La eliminación genética de *Cnr1* (que codifica para CB1R) en células beta de ratón previene la inflamación en el islote y preserva su viabilidad. Además, islotes murinos *Cnr1*KO son más sensibles al estímulo de glucosa para secretar insulina. En paralelo, la ablación génica de *Cnr1* en células inmunes de ratón previene así mismo la inflamación en el islote.

Objetivos: Hipotetizamos que la célula beta juega un papel esencial en el inicio y evolución de la insulitis, y CB1R es regulador clave de la interacción con las células inmunes. Proponemos investigar el mecanismo de acción de CB1R de células beta y de células inmunes en el inicio y evolución de la insulitis en un modelo *ex vivo* humano.

Material y métodos: Los islotes humanos se cultivaron en 3D en gel de matriz extracelular solubilizada en cocultivo con células mononucleares periféricas de la sangre (PBMCs) del mismo donante y se incubaron con citoquinas (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ) en presencia de vehículo o un antagonista de CB1R. La expresión de *CNR1* se eliminó mediante la tecnología CRISPR/Cas9. Se evaluaron el estrés, la inflamación, la función de los islotes y la infiltración de células inmunitarias en los islotes. Los estudios *in vitro* se validaron *in vivo* mediante citometría de flujo en ratones NOD (con diabetes autoinmune) de 6 semanas de edad tratados con un antagonista de CB1R.

Resultados: Las citoquinas indujeron la secreción de endocannabinoides de los islotes, estrés, secreción de quimioquinas, insulitis y disfunción. Mediante tecnología CRISPR/Cas9 conseguimos una reducción significativa de la expresión de *CNR1* en islotes humanos y una ablación total de la isoforma específica de células beta, *CNR1b*. El bloqueo de CB1R o su ablación genética previene la producción de óxido nítrico en los islotes inducida por citoquinas, reduciendo el estrés de retículo y la secreción de cito/quimioquinas. En consecuencia, el bloqueo o ablación genética de *CNR1* en islotes previno el inicio de la insulitis, preservando la viabilidad y función del islote.

Conclusiones: Estos resultados ponen de manifiesto que CB1R regula la interacción de las células beta con las células inmunes en el inicio de la insulitis, y sugiere que su bloqueo farmacológico puede ser beneficioso

para preservar la masa de células beta en la DT1.