



P-005 - LA INHIBICIÓN DE LA INTERACCIÓN TYK2-IFNAR1 PREVIENE APOPTOSIS INDUCIDA POR CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS EN CÉLULAS ? PANCREÁTICAS: POSIBLE TERAPIA PREVENTIVA PARA LA DT1

D. Guzmán-Llorens^a, S. Cortell-Mera^a, A. Montalvã^a, C. Moreno-Castro^b, M. Igoillo-Esteve^b, R.S. dos Santos^c y L. Marroquí^{a,d}

^aInstituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universidad Miguel Hernández de Elche, España. ^bULB Center for Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Bélgica. ^cUnidad de Investigación, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Elche, España. ^dCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, CIBERDEM, Madrid, España.

Resumen

Introducción y objetivos: La diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por el ataque del sistema inmune sobre las células ?. Los interferones tipo 1, como IFN?, son clave en la patogénesis inicial de la DT1 mediando la sobreexpresión de MHC de clase I, el estrés de retículo endoplasmático y la apoptosis de las células ?. Se ha propuesto la vía de señalización de IFN tipo 1 como posible diana terapéutica para la DT1. De hecho, ciertos inhibidores de las proteínas janus quinasa (JAK) de primera generación son potenciales candidatos como terapia preventiva en DT1. Pero, presentan ciertos problemas, incentivando descubrir nuevas formas de inhibir estas proteínas. Anteriormente, nuestro grupo propuso una metodología de cribado bioinformático por la cual obtuvimos varios potenciales inhibidores de la interacción entre los dominios FERM-SH2 de TYK2 y el receptor de IFN?, IFNAR1. El objetivo de este trabajo consiste en la caracterización del potencial inhibitorio del compuesto seleccionado (TYK2i), el cual presentó los mejores resultados tras el cribado, profundizando en su mecanismo de acción y su potencial inhibitorio de la señalización de IFN? en las células ? y ? pancreáticas.

Material y métodos: IFN? solo o junto IL-1? fueron utilizados para reproducir el entorno proinflamatorio de la DT1. La expresión proteica y activación de las vías de señalización de STAT1/2/3, JNK, c-Jun y SOCS3 se analizaron mediante *western blot*. La expresión génica se midió mediante RT-qPCR. Se analizó la secreción de quimiocinas mediante ensayo *Multiplex*. Y finalmente se comprobó la viabilidad (mediante HO/PI) en líneas celulares inmortalizadas de células ? (MIN6 y EndoC-?H1) y ? (?TC1,9), así como en células ? derivadas de iPSCs.

Resultados: Al analizar el efecto en la viabilidad, se puede ver como el tratamiento con el compuesto 4 entre 0,5 y 5 ?M presenta un efecto protector en las distintas líneas celulares (n = 4; p < 0,05) así como en las células ? derivadas de iPSCs (n = 4; p < 0,05). Sin embargo, al analizar la vía clásica de IFN? mediante la activación de STAT1/2 por fosforilación, las diferencias observadas no explicaban los efectos protectores de C4 en apoptosis (n = 5). Al analizar otras vías activadas por IFN?, nos encontramos con una disminución de la fosforilación de STAT3 de un 30% (n = 3; p < 0,05) y una tendencia de reducción de JNK (n = 3). Sin embargo, no hemos observado cambios significativos en SOCS3 (n = 3).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que este inhibidor de la interacción TYK2-IFNAR1 puede ser un potencial tratamiento preventivo para la DT1. C4 exhibe un claro efecto protector frente a la apoptosis

inducida por citoquinas propias de la fase temprana de DT1, aunque es necesario ahondar en los mecanismos y vías de señalización implicadas en esta protección.