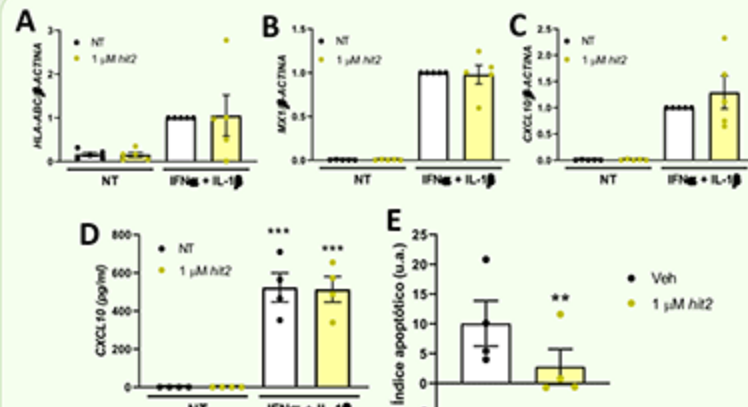
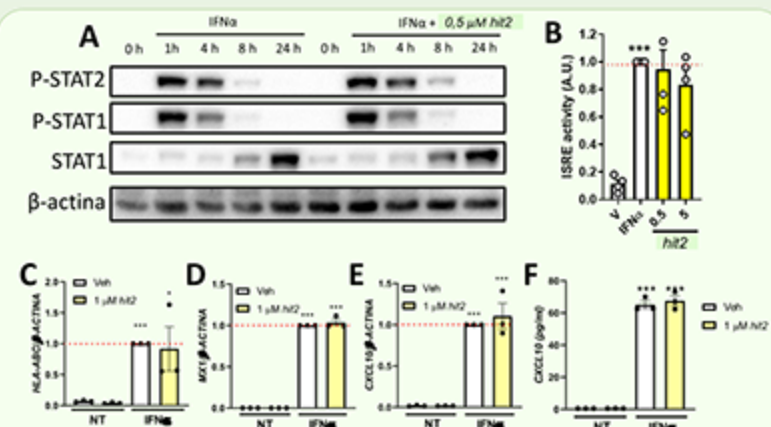
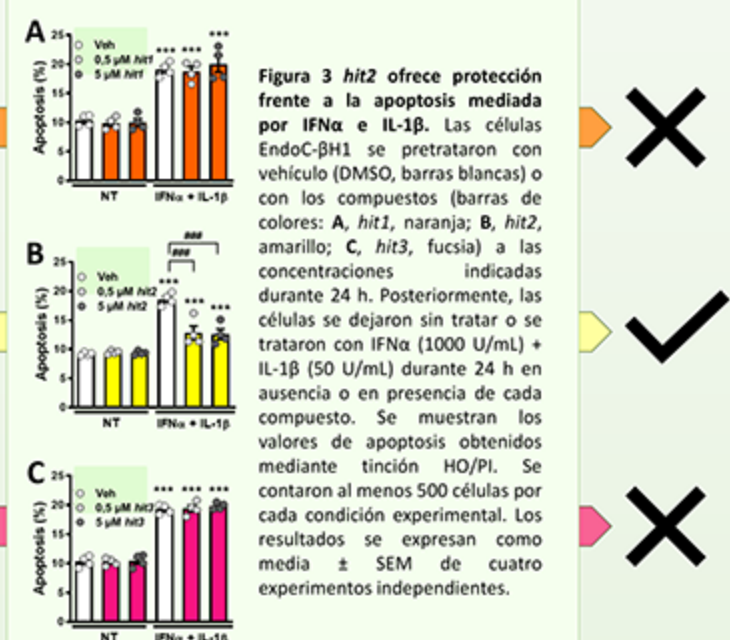
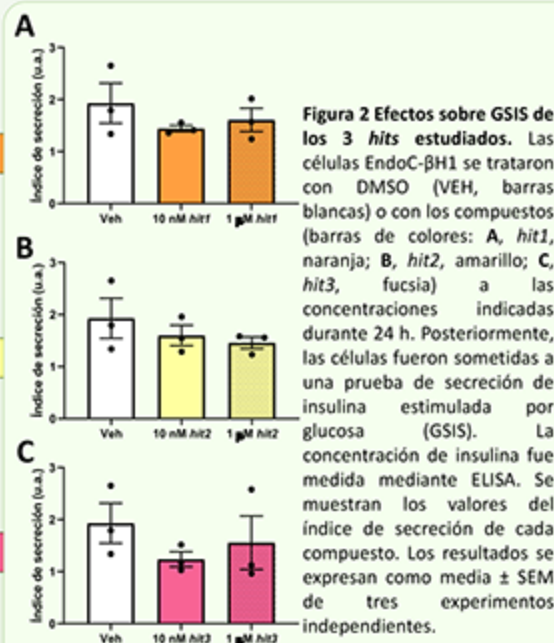
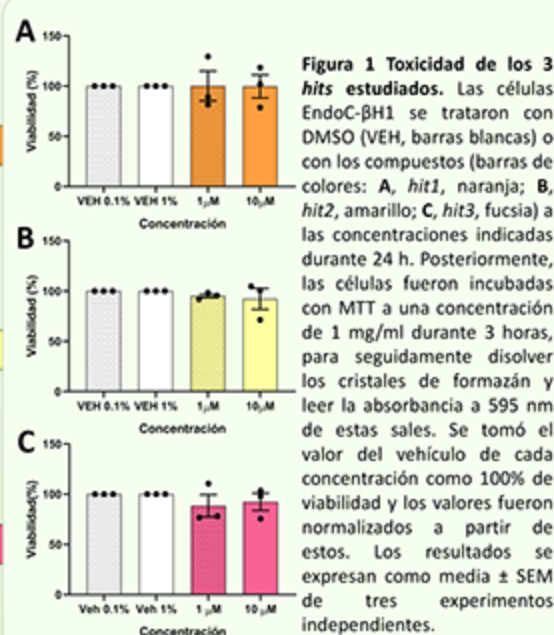


Una pequeña molécula moduladora de la interacción de
TYK2-IFNAR1 protege a las células β pancreáticas de la
apoptosis inducida por citoquinas proinflamatoriasDaniel Guzmán-Llorens¹, Ginés Nicolás-Zapata¹ Cristina Moreno-Castro², Mariana Igoillo-
Esteve², Reinaldo S. dos Santos^{1,3,4}, Laura Marroquí^{1,3}¹Instituto de Investigación en Biotecnología y Salud, Universidad Miguel Hernández de Elche, Elche, España. ²CIBERDEM, España. ³ULB Center for
Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles, Bruselas, 1070, Bélgica. ⁴Unidad de Investigación, Fundación para el Fomento de la Investigación
Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Hospital General Universitario de Elche, Elche, España.

Introducción y objetivos: La diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la destrucción de las células β . Los interferones (IFN) tipo 1, como IFN α , son clave en la patogénesis de la DT1, mediando en la sobreexpresión de MHC de clase I, el estrés de retículo endoplasmático y la apoptosis de las células beta (en sinergia con otras citoquinas, como IL-1 β). La vía de señalización de IFN tipo 1 ha sido propuesta como diana terapéutica para la DT1. Actualmente, baricitinib, un inhibidor de las proteínas Janus quinasa (JAK), involucradas en esta vía, está siendo evaluado como posible tratamiento para la DT1 en un ensayo clínico (actualmente en reclutamiento para la fase 3). Anteriormente, nuestro grupo presentó los resultados in vitro obtenidos de una molécula con potencial modulador de la interacción del receptor de IFN α (IFNAR) y el dominio FERM-SH2 de TYK2, una proteína JAK, obtenida mediante un cribado in silico de varias bibliotecas de pequeñas moléculas. En el presente trabajo, mostramos los resultados obtenidos de otros 3 hits obtenido de este cribado in silico, cuya efectividad fue testada en varios modelos celulares.

Materiales and métodos: Los experimentos in vitro fueron realizados en células EndoC- β H1 o células β derivadas de células madre pluripotenciales (iPSC), según lo indicado. Se recreó un entorno proinflamatorio similar al de la T1D mediante IFN α , con o sin IL-1 β . La expresión y fosforilación proteica se analizaron por western blot. La actividad del promotor ISRE se midió mediante ensayo de luciferasa y la expresión génica por RT-PCR. La secreción de insulina y quimiocinas se evaluó mediante ensayos de ELISA y Multiplex, respectivamente. La viabilidad celular se evaluó con tinción HO/PI, mientras que la toxicidad de los hits fue analizada utilizando ensayos MTT.

Resultados: De los 3 hits analizados, ninguno mostró efectos tóxicos ($n=3$) ni alteró la secreción de insulina ($n=3$) de las células EndoC- β H1. De estos, *hit2* demostró presentar efectos protectores frente a los estímulos proapoptóticos de las citoquinas en ambos modelos testados ($n=4$, $p<0,05$), por lo que continuamos únicamente con este. Sin embargo, al analizar los efectos sobre la cascada de señalización clásica de IFN α , no pudimos observar alteraciones significativas en ningún punto. La fosforilación de las proteínas STAT, la actividad del promotor ISRE, la expresión génica o la secreción de quimiocinas no disminuyeron.



Conclusiones: Estos resultados sugieren que *hit2* es capaz de proteger a las células β de los estresores característico del entorno proinflamatorio de la diabetes tipo 1. No obstante, no se puede afirmar que, en este caso, se deba al bloqueo de la vía de señalización de IFN α . Aún se requiere ahondar en los mecanismos de estas pequeñas moléculas y las alteraciones que provocan más allá de la vía clásica de IFN α . Solo de esta manera se podrá definir correctamente su potencial terapéutico.