



Avances en Diabetología



O-045. - EXENDINA-4 ACTIVA LA PROLIFERACIÓN CELULAR MEDIANTE LA INHIBICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA INDUCIBLE (iNOS) EN UNA LÍNEA CELULAR PANCREÁTICA HUMANA, 1.1E7

F.M. Visiedo García, C. Segundo Iglesias, A. Díaz Gañete, M. Mata Pica, P.J. Costa Luz y M. Aguilar-Diosdado

Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

Resumen

Introducción: En la diabetes tipo 1 (DM1), las células beta pancreáticas secretoras de insulina son destruidas por una respuesta autoinmune aún no suficientemente comprendida. Ello conlleva la aparición de un infiltrado pancreático formado por linfocitos T y macrófagos que secreta un conjunto de citoquinas proinflamatorias directamente implicadas en la patofisiología de la enfermedad. Los mecanismos bioquímicos y moleculares mediante los cuales se origina este fenómeno no están claros en la actualidad. Por su parte, las citoquinas liberadas inducen la expresión de la iNOS provocando la producción de NO que adquiere una función relevante mediante la modulación de las principales vías de señalización celular (MAPKs y Akt) alterando su función a través de diferentes efectos postraduccionales.

Objetivos: Estudio del balance proliferación/apoptosis y de sus posibles mecanismos de regulación por modificación postraduccional (nitrosilación y fosforilación) en una línea de células beta humana.

Material y métodos: El estudio se realizó en una línea celular estable de páncreas humano (1.1E7) secretora de insulina. Se usaron citoquinas proinflamatorias recombinantes de ratas IL-1 β , TNF- α , INF- γ y se realizaron ensayos de proliferación y apoptosis mediante inmunomarcaje con BrdU y Tunel respectivamente. Para la detección de proteínas modificadas se utilizó tanto la técnica de Western-blot (fosforiladas) como el método de Biotin-Switch (nitrosiladas). Adicionalmente, se evaluó el efecto de exendina-4 (análogo de GLP-1) como potencial agente inhibidor del efecto antiproliferativo de las citoquinas.

Resultados: Las citoquinas proinflamatorias produjeron un marcado efecto antiproliferativo *in vitro*, principalmente en combinación y con independencia de los niveles de glucosa. La fosforilación de ERK 1/2 y Akt fue inhibida por la acción de las citoquinas proinflamatorias, la nitrosilación de ambas aumentó considerablemente mientras que la proliferación celular disminuyó significativamente cuando se incubaron con inhibidores de ambas rutas. Además, la quinasa inducible por citoquinas JNK, se activó de manera potente y significativa en respuesta al estrés proinflamatorio. Por el contrario, la exendina-4 disminuyó de manera notable la síntesis de la enzima iNOS y aumentó la tasa de proliferación celular, apreciándose variaciones en los niveles tanto de nitrosilación y fosforilación de Akt y ERK 1/2 como en los niveles totales de antioxidantes (catalasa).

Conclusiones: 1) Exendina-4 induce un efecto antiapoptótico y proliferativo en células β pancreáticas humanas, probablemente por inhibición de la expresión de la enzima iNOS. 2) Este efecto se asocia a alteraciones en el perfil nitrosativo/fosforilativo de proteínas esenciales para el crecimiento y la supervivencia celular como ERK 1/2 y Akt.