



## P-075 - IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 1 BASADAS EN LAS ESTRATEGIAS DE SUPERVIVENCIA DE LAS CÉLULAS ALFA PANCREÁTICAS

L. Marroqui<sup>a,b</sup>, R.M. Medina-Gali<sup>a,b</sup>, A.A. Pérez-Serna<sup>a,b</sup> y R.S. dos Santos<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universidad Miguel Hernández, Elche. <sup>b</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM).

### Resumen

**Objetivos:** La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune caracterizada por la pérdida progresiva de células beta. Durante la progresión de la diabetes tipo 1, tanto las células alfa como las células beta están expuestas a los mismos factores estresantes (por ejemplo, citoquinas proinflamatorias), pero solo las células alfa sobreviven en este entorno. Es de destacar que los mecanismos subyacentes a esta resistencia de las células alfa aún no se han aclarado. Aquí buscamos identificar proteínas con una expresión elevada en células alfa que pudieran proteger a este tipo celular contra estímulos pro-inflamatorios.

**Material y métodos:** Se realizó un análisis bioinformático utilizando datos de secuenciación de ARN de humano y de ratón de células alfa y beta purificadas obtenidas de cuatro estudios diferentes. Los genes candidatos se seleccionaron según los siguientes criterios de selección: 1) expresión media  $\geq 2$ ; 2) expresión en células alfa  $\geq 2$  veces la expresión en células beta; 3) el gen debe expresarse en todas las muestras; 4) el gen debe confirmarse en los cuatro estudios de secuenciación de ARN seleccionados. La expresión de ARN mensajero (ARNm) se evaluó en células alfa y beta de rata purificadas con FACS, y en células alfaTC1-9 y MIN-6 mediante RT-PCR cuantitativa. Los resultados de expresión génica se confirmaron a nivel proteico mediante inmunofluorescencia y western blot. Para evaluar su función, los genes candidatos se silenciaron usando ARN de interferencia y se sobreexpresaron mediante vectores de sobreexpresión. La viabilidad celular se evaluó mediante tinción con Hoechst/yoduro de propidio.

**Resultados:** Veinticinco genes candidatos cumplieron con los criterios de selección establecidos; dos genes, *Vim* (vimentina) y *Ttr* (transtiretina), se seleccionaron en función de sus funciones conocidas. En células primarias purificadas de rata, ambos genes presentaron una mayor expresión de ARNm en células alfa que en células beta (cambio de 8 a 266 veces). En las líneas celulares, la expresión de *Vim* fue mayor en las células alphaTC1-9 que en las células MIN-6, mientras que la expresión de *Ttr* fue menor en las células alphaTC1-9 que en las células MIN-6. El silenciamiento de *Vim* o *Ttr* exacerbó la apoptosis en condiciones basales en células alphaTC1-9 (aumento de 1,5 a 3 veces). Este aumento se mantuvo tras la exposición a citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 $\beta$  + IFN $\gamma$ ).

**Conclusiones:** Estos hallazgos sugieren que nuestro análisis bioinformático es un enfoque válido

para identificar genes que pueden desempeñar funciones importantes en la supervivencia de las células alfa durante el desarrollo de la diabetes tipo 1.