



## O-011 - IDENTIFICACIÓN DE VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTES DEL AMPc QUE REGULAN LA PROLIFERACIÓN DE LA CÉLULA $\beta$ ; EN LA ETAPA POSNATAL TEMPRANA EN ISLOTES DE RATÓN

B. Serra Navarro, R. Fernández, A. García, J. Mir, Y. Esteban, R. Gomis y R. Gasa

CEK, IDIBAPS-Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

### Resumen

**Objetivos:** La regulación y potenciación de la proliferación de la célula  $\beta$  pancreática es un objetivo principal en la prevención y/o retardo de la diabetes. Su replicación se regula a través de un proceso dinámico, siendo muy elevada en el estado embrionario hasta el nacimiento y disminuyendo gradualmente durante la etapa posnatal, manteniéndose en niveles muy bajos durante la edad adulta. Las vías de señalización que regulan este descenso son poco conocidas. Este estudio pretende establecer el papel de las vías Gs $\alpha$ -dependientes que actúan a través del segundo mensajero AMPc en la regulación de la masa celular  $\beta$  durante la etapa posnatal temprana.

**Material y métodos:** Generación de ratones Gs $\alpha$ -deficientes ( $\beta$ -Gs $\alpha$ KO) cruzando *Ins1-Cre* con *Gnas<sup>flox/flox</sup>*. Estudiamos la homeostasis de la glucosa a través del test intraperitoneal de tolerancia a la glucosa (IpGTT), la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) y un test de tolerancia a la insulina (ITT). La masa de célula  $\beta$  ha sido analizada por inmunofluorescencia y su posterior análisis morfométrico. La apoptosis se determinó mediante el ensayo TUNEL. La proliferación de la célula  $\beta$  se estudió mediante la tinción de *Ki67*, un marcador bien conocido de replicación. Los islotes aislados se utilizaron para estudiar el contenido de insulina, los niveles de AMPc a través de ELISA, la proteína por *western blot* y la expresión génica por *RT-qPCR*.

**Resultados:** Los ratones  $\beta$ -Gs $\alpha$ KO desarrollan hiperglicemia a la primera semana de edad (p7). A las 4 semanas (p28) son hipoinsulinémicos, intolerantes a la glucosa y presentan una menor GSIS *in vivo* con respecto a los controles (ct). Islotes aislados de p28 KO presentan niveles muy bajos de AMPc en condiciones basales (10% vs Ct) y una reducción en respuesta a forskolina. También presentan menos contenido de insulina (50% vs Ct), fenotipo observado desde la primera semana de vida, agravándose con la edad. Islotes p28 muestran una disminución en el área fraccional (40%) y masa (20%) de célula  $\beta$  sin cambios en el compartimento  $\alpha$ . Esta bajada se asocia a una menor proliferación sin signos de un aumento en apoptosis. La expresión génica de *Glp1R* ( $p = 0,05$ ), *GipR* ( $p = 0,05$ ) e *Igf1R* ( $p = 0,003$ ) aparece disminuida desde p7. Curiosamente, los islotes KO presentan niveles de proteína y activación normales de CREB, pero una reducción en la activación de Akt ( $p = 0,04$ ) a p28.

**Conclusiones:** Este estudio revela la importancia de la señalización mediada por AMPc en el establecimiento de la masa de célula  $\beta$  durante la etapa posnatal temprana. Además, sugiere la

conexión mediante el AMPc y la señalización intracelular mediada por IGF1/Akt en la célula  $\beta$ . Experimentos en curso tienen como objetivo identificar los determinantes moleculares que conectan estas dos vías y su papel en el control de la proliferación en la etapa posnatal de la célula  $\beta$ .