



P-001 - PEQUEÑAS MOLÉCULAS INHIBIDORAS DE LA INTERACCIÓN PROTEÍNA-PROTEÍNA ENTRE TYK2 E IFNAR1 COMO UNA NUEVA ESTRATEGIA PARA LA PREVENCIÓN DE LA INFLAMACIÓN EN LOS ESTADIOS INICIALES DE LA DIABETES TIPO 1

D. Guzmán Llorens^a, A. Pérez Serna^{a,b}, M. Martínez Cuenca^a, J.A. Encinar Hidalgo^a, R. Sousa dos Santos^{a,b} y L. Marroquí Esclapez^{a,b}

^aInstituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Elche, España.

^bCentro de Investigación Biomédica en Red 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 beta. Los interferones tipo 1, como IFN α , 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 beta (en sinergia con IL-1 β). 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 células beta, pero debido a algunos problemas, es necesario descubrir nuevas formas de inhibir estas proteínas. Por esta razón, hemos comprobado si moléculas que bloquean la interacción entre los dominios FERM-SH2 de TYK2 y el receptor de IFN α , IFNAR1, pueden inhibir la señalización de IFN α en células beta.

Material y métodos: Para el acoplamiento molecular, utilizamos las estructuras cristalinas de los dominios FERM-SH2 de TYK2 con un fragmento intracelular de IFNAR1. Realizamos un cribado de 6 librerías de pequeñas moléculas en busca de compuestos compatibles con la zona de interacción de las proteínas. Los cálculos fueron realizados con el *software* AutoDock/Vina. Seguidamente, realizamos simulaciones de dinámica molecular (SDM) usando la estructura de los dominios FERM-SH2 mediante el *software* NAMD. La viabilidad celular fue evaluada por tinción Hoechst/PI o MTT. La actividad del promotor ISRE fue analizada mediante ensayo de luciferasa. La expresión proteica se midió mediante *western blot*. IFN α solo o junto IL-1 β fueron utilizados para reproducir el entorno proinflamatorio de la DT1.

Resultados: Tras cribar más de 710.000 compuestos, se realizaron SDM de 40 moléculas. Se seleccionaron aquellos compuestos que cumplían los siguientes criterios: una trayectoria con una desviación menor a 20 Å desde su configuración inicial durante 100 ns y una energía libre de unión \leq 20 kcal/mol, dejándonos con 37 moléculas, de las cuales testamos 4. Tras 48 h de tratamiento, solo la dosis más alta (100 μ M) de cada compuesto mostraba citotoxicidad en células INS-1E (n = 3; p < 0,05). En células humanas EndoC- β H1, solo el compuesto 4 produjo toxicidad (n = 4; p < 0,05). En presencia de IFN α , solo los compuestos 2 y 4 (5 μ M) disminuyeron la

actividad del promotor ISRE ($n = 4$; $p < 0,05$) en EndoC- β H1. Estas mismas condiciones ofrecieron un 50% de protección frente a la apoptosis inducida por IFN α + IL-1 β ($n = 4$; $p < 0,001$ y $p < 0,01$, respectivamente). Ninguno de los compuestos estudiados inhibió significativamente la fosforilación de STAT1/2 inducida por IFN α ($n = 3$).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que nuestro enfoque bioinformático es apto para el cribado y selección de pequeñas moléculas y que algunos de los compuestos seleccionados pueden prevenir la apoptosis inducida por IFN α + IL-1 β en células beta humanas.