



P-152 - EL DÉFICIT DE CFTR EN CÉLULAS ESTRELLADAS DEL PÁNCREAS CONDICIONA LA ADQUISICIÓN DE UN FENOTIPO PROLIFERATIVO Y PROINFLAMATORIO

Laura Campderrós Traver¹, Raquel Ibáñez Ferrer¹, Verónica Villagrasa², Eva Cristina Vaquero Raya^{2,3} y Xavier Molero Richard^{1,4,5}

¹Grup de Recerca en Patologia Pancreàtica Exocrina, Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Barcelona.

²IDIBAPS, Barcelona. ³Servicio de Gastroenterología, ICMDM, Hospital Clínic, Barcelona. ⁴Servei d'Aparell Digestiu, Hospitals Universitaris Arnau de Vilanova/Santa Maria, Lleida. ⁵Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLleida), Lleida.

Resumen

Introducción: La fibrosis quística está causada por mutaciones en el gen CFTR que codifica un canal transmembrana que controla el flujo de aniones. El dogma establecido es que CFTR se expresa solo en células epiteliales, pero se ha demostrado su actividad en otras estirpes celulares, como células endoteliales, macrófagos o fibroblastos. Las células estrelladas del páncreas (CEP) son esenciales para el control de la homeostasis tisular y participan activamente en procesos fibroinflamatorios, como los que ocurren en la pancreatitis crónica o en la fibrosis quística. No se ha evidenciado previamente expresión de CFTR en CEP.

Métodos: Se realizó aislamiento y cultivo primario de CEP de ratones control y de ratones CFTR-KO. Se analizó la expresión génica de CFTR utilizando qRT-PCR, *droplet* digital PCR (ddPCR) y RNAseq. La expresión proteica se estudió mediante IP-Western blot e inmunocitoquímica (microscopía confocal). La expresión diferencial de citoquinas, quemoquinas y proteínas de matriz extracelular entre CEP control y CFTR-KO se analizó mediante qRT-PCR y Western-blot. Se llevaron a cabo ensayos de proliferación y migración celular.

Resultados: Hemos podido demostrar bajos niveles de expresión de CFTR en CEP activadas mediante qRT-PCR, PCR digital, RNAseq (ARNm), Western-blot e inmunocitoquímica. Los niveles de expresión están sujetos a regulación, pues aumentan consistentemente al llevar las CEP a quiescencia mediante cultivo en matrigel ($\times 1,8 \pm 0,3$ veces), tras inducción de autofagia mediante depleción de nutrientes ($\times 1,5 \pm 0,3$ veces) y después de alimentación de los animales con dieta hipercalórica ($\times 2,2 \pm 0,2$ veces), mientras que sus niveles disminuyen en respuesta a endotoxina ($24 \pm 3\%$) y TGF β ($30 \pm 4\%$), correlacionándose entonces con aumento de la expresión de IL-1 β , IL-6, TNF α ; y Mmp9. Curiosamente, la expresión de CFTR es mayor en CEP hembras que en CEP masculinas ($\times 2,5 \pm 0,4$). CEP procedentes de ratones CFTR-KO muestran mayor expresión (ARNm y proteína) de α -actina de músculo liso ($25 \pm 5\%$) y colágeno ($18 \pm 8\%$) que las CEP control, así como mayores niveles de expresión de Tnf α , IL-1 β ; e IL-6. Además, CEP CFTR-KO tienen un mayor ritmo de proliferación y mayor capacidad de migración que las CEP control. El flujo autofágico de CEP deficientes en CFTR está alterado en comparación a CEP control.

Conclusiones: CFTR se expresa en células estrelladas del páncreas y está sujeto a regulación. La reducción de la expresión de CFTR en CEP se acompaña de la adquisición de un fenotipo activado proliferativo y proinflamatorio. El déficit funcional de CFTR en CEP puede contribuir a la fisiopatología pancreática característica de la fibrosis quística.