

## **Trabajos Seleccionados**

### **PRESENTACIONES ORALES**

#### **O5 HTD4010: péptido análogo de INGAP-PP con mayor potencia estimuladora sobre función y masa insular $\beta$**

Macarena Algañarás<sup>1</sup>, Carolina Román<sup>1</sup>, Lucía Ahrtz<sup>1</sup>, María Victoria Mencucci<sup>1</sup>, Sherley Farromeque<sup>1</sup>, Bárbara Maiztegui,<sup>1</sup> Juan José Gagliardino<sup>1</sup>, Luis Emilio Flores<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CENTRO DE ENDOCRINOLOGÍA EXPERIMENTAL Y APLICADA (CENEXA), UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (UNLP)-CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET), LA PLATA, PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: macarenaalga.aras@gmail.com

**Introducción:** el INGAP-PP, péptido derivado de la proteína asociada a la neogénesis insular (INGAP), modula positivamente la masa y función celular  $\beta$  en ratas normales y con diabetes. Su empleo en un estudio clínico aumentó la liberación de péptido C en personas con DM1 y mejoró el control glucémico en personas con DM2, pero el estudio debió interrumpirse por aparición de lesiones cutáneas en el sitio de inyección. Buscando análogos más potentes, capaces de ser utilizados en menor cantidad y frecuencia de inyección, surgió el HTD4010, péptido con mayor estabilidad en plasma y potencial impacto favorable a nivel insular.

**Objetivos:** determinar el efecto de HTD4010 sobre la secreción de insulina y la expresión génica de factores moduladores de la masa y función  $\beta$  en islotes de rata.

**Materiales y métodos:** islotes aislados (digestión con colagenasa) de ratas Wistar macho normales fueron cultivados 4 días en RPMI, conformándose 5 grupos: Control (C); con el agregado al medio de INGAP-PP 1 $\mu$ g/ml (I1); agregado de HTD4010 0,01 $\mu$ g/ml (H0.01); 0,1 $\mu$ g/ml (H0.1) o 1 $\mu$ g/ml (H1). Luego del cultivo, los islotes se incubaron una hora con glucosa 3,3 ó 16,6 mM para medir secreción de insulina por RIA. En los islotes de los grupos C, I1 y H0.01 aislamos ARN total para determinar niveles de expresión de genes (qRT-PCR) relacionados con función insular, señalización de insulina, neogénesis y apoptosis.

**Resultados:** no encontramos diferencias en la insulina liberada frente a glucosa 3,3 mM, pero frente a glucosa 16,6 mM, los islotes de los grupos I1, H0.01, H0.1 y H1 secretaron significativamente más insulina que los de C ( $p < 0,05$ ); además, el HTD4010 produjo el mismo efecto que INGAP-PP con una dosis 100 veces menor (H0.01 vs. I1). En islotes H0.01 aumentó ( $p < 0,05$ ) la expresión génica de insulina y PDX1 (función insular), de Ngn-3 (neogénesis), de RI, IRS1 y 2, PI3K y Akt (señalización de insulina), de Bcl2 (anti-apoptótico) y Bad (proapoptótico). Paralelamente, caspasas 8, 9 y 3 (apoptosis) disminuyeron ( $p < 0,05$ ) en H0.01. La relación Bcl2/Bad evidenció un efecto anti-apoptótico 30% mayor en H0.01 respecto a los islotes I1.

**Conclusiones:** HTD4010 es 100 veces más potente que el INGAP-PP en su efecto potenciador de la secreción de insulina, efecto que se asocia al aumento de la expresión de genes involucrados en la función y la modulación de la masa de células  $\beta$ . En consecuencia, HTD4010 podría ser un buen candidato para emplearse en nuevos ensayos clínicos en personas con DM2.

**O5 HTD4010, an INGAP-PP analogue with a more potent effect on modulation of  $\beta$ -cell mass and function.**

Macarena Algañarás<sup>1</sup>, Carolina Román<sup>1</sup>, Lucía Ahrtz<sup>1</sup>, María Victoria Mencucci<sup>1</sup>, Sherley Farromeque<sup>1</sup>, Bárbara Maiztegui,<sup>1</sup> Juan José Gagliardino<sup>1</sup>, Luis Emilio Flores<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CENTER OF EXPERIMENTAL AND APPLIED ENDOCRINOLOGY (CENEXA), UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (UNLP) -NATIONAL COUNCIL OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL INVESTIGATIONS (CONICET), LA PLATA, PROVINCE OF BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: macarenaalga.aras@gmail.com

**Background:** INGAP-PP, a 15-amino acid peptide derived from INGAP (Islet Neogenesis Associated Protein), positively modulates  $\beta$ -cell mass and function in normal and diabetic rats. In a clinical trial, INGAP-PP increased C-peptide release in people with DT1 and improved glycaemic control on DT2 patients, but the study had to be stopped due to the appearance of skin lesions at the injection site. Looking for more stable and potent analogues, able of being administered in lower concentrations with a reduced injection frequency, HTD4010, a peptide that shows greater stability in plasma, has been developed.

**Aim:** to determine the effect of HTD4010 on insulin secretion and gene expression of modulator factors of  $\beta$  cells mass and function.

**Materials and methods:** Isolated islets (digestion with collagenase) from normal male Wistar rats were cultured for 4 days in RPMI, without (Control group -C-) or with the addition to the culture medium of 1  $\mu$ g/ml INGAP-PP (I1), or HTD4010 at different concentrations: 0.01 (H0.01); 0.1 (H0.1) or 1  $\mu$ g/ml (H1). Groups of 5 pre-cultured islets were incubated for one hour in KRB with different glucose concentrations (3.3 or 16.6 mM) and insulin released was determined by RIA. Total RNA was obtained from C, I1 and H0.01 islets and gene expression levels of markers of insulin signalling and  $\beta$ -cell mass (neogenesis and apoptosis) and function were determined by RT-qPCR.

**Results:** We found no differences in insulin released at basal condition (3.3 mM glucose), however at 16.7 mM glucose, I1, H0.01, H0.1 and H1 islets secreted significantly more insulin than C ones ( $p < 0.05$ ); in addition, HTD4010 produced the same effect as INGAP-PP in a 100-lower dose (H0.01 vs. I1). Gene expression of insulin and PDX1 (insular function), Ngn-3 (neogenesis), RI, IRS1 and 2, PI3K and Akt (insulin signalling), Bcl2 and Bad (apoptosis) was increased ( $p < 0.05$ ) in both, H0.01 and I1 islets compared to C ones. On the other hand, gene expression of caspases 8, 9 and 3 (apoptosis) was decreased ( $p < 0.05$ ) in H0.01 and I1. Bcl2/Bad ratio was 30% higher in H0.01 than in I1, demonstrating that the analogue shows a greater anti-apoptotic effect than INGAP-PP.

**Conclusions:** HTD4010 potentiates glucose stimulated insulin secretion at a 100-times lower concentration than INGAP-PP. This effect is associated with an increased expression of genes involved in regulation of  $\beta$  cell mass and function. Consequently, HTD4010 could be a good candidate to be used in new clinical trials in people with T2D.