

Evaluación de la inhibición de TYK2 con Zasocitinib como nueva terapia para la Diabetes Tipo 1

Daniel Juan Serrano



Tutores:

Dra. Laura Marroquí Esclapez

Daniel Guzmán Llorens

Reinaldo Sousa dos Santos

Grado en Biotecnología
Facultad de Ciencias Experimentales
Trabajo Final de Grado
2025/2026

Abreviaturas

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

CCL2: Ligando 2 de quimiocina con motivo C-C

CXCL10: Ligando 10 de quimiocina con motivo CXC

DC: Célula dendrítica

DMSO: Dimetilsulfóxido

ESC: Célula madre embrionaria

FBS: Suero bovino fetal

HLA: Antígenos leucocitarios humanos

IA-2: Tirosín fosfatasa 2

IFN: Interferón

IFNAR: Receptor de interferón Alfa/Beta

IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina 1

IL-1B: Interleucina 1 β

IPSC: Célula pluripotente inducida

ISG: Genes estimulados por interferón

ISGF3: Factor Genético Estimulado por Interferón 3

ISRE: Elemento regulatorio estimulado por interferón

JAK: Proteína Janus Quinasa

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

MX1: Gen de resistencia a mixovirus 1

NOD: Ratones diabéticos no obesos

PBS: Tampón fosfato salino

SNP: Polimorfismos de un solo nucleótido

STAT: Transductores de señales y activadores de transcripción

DT1: Diabetes tipo 1

DT2: Diabetes tipo 2

TNF: Factor de necrosis tumoral

TYK2: Proteína tirosina quinasa 2

XBP1: Proteína de unión a X-box1

ZnT8: Transportador de Zinc

Resumen

Existen aproximadamente 10 millones de personas alrededor de todo el mundo que viven con diabetes tipo 1. Con el fin de mejorar las terapias clásicas, se han abierto nuevas líneas de investigación que buscan alternativas para la prevención del desarrollo de diabetes tipo 1. Una de las líneas de estudio más importantes es la vía de señalización de IFN α .

En este trabajo se pone a prueba zasocitinib, un inhibidor específico de TYK2 en fase clínica II para el tratamiento de psoriasis, como una posible terapia para la prevención de los daños inducidos por IFN α en célula β pancreática. El presente trabajo demuestra que zasocitinib protege a las células β de la apoptosis inducida por IFN α e IL-1 β a través de la inhibición de la vía señalización de IFN α , mediada por la fosforilación de STAT1, entre otros factores. Además, su efecto protector se establece por su capacidad de prevenir la sobreexpresión de HLA de clase I y genes proinflamatorios. Sin embargo, zasocitinib no es capaz de prevenir la sobreexpresión de marcadores de estrés de retículo.

Los resultados obtenidos con zasocitinib lo postulan como un gran candidato para evitar los efectos adversos inducidos por IFN α en la fase temprana de diabetes tipo 1.

Palabras clave: célula β , HLA, IFN α , inflamación, zasocitinib, estrés de RE.

Abstract

There are approximately 10 million people around the world that live with type 1 diabetes. With the objective of improving classic therapies, new research topics have opened new avenues to seek alternatives for the prevention of type 1 diabetes development. One of the most important investigation points is the signaling pathway of IFN α .

In this study, we have tested zasocitinib, a TYK2 specific inhibitor in clinic phase II for psoriasis treatment, as a possible therapy for the prevention of the damages produced by IFN α in pancreatic β cell. The present investigation demonstrates that zasocitinib protects β cell from the apoptosis induced by IFN α and IL-1 β throughout the inhibition of the signaling of IFN, mediated by the STAT1 phosphorylation, besides other factors. Moreover, its protectory effect is establish by its capacity to prevent the overexpression of class I HLA and proinflammatory genes. Nevertheless, zasocitinib cannot prevent the overexpression of ER stress markers.

These findings suggest that zasocitinib may be a great candidate to avoid the adverse effects induced by IFN α during the early stages of type 1 diabetes.

Keywords: β -cell, HLA, IFN α , inflammation, zasocitinib, ER stress.

Índice

Introducción	5
Epidemiología	6
Etiología	7
Factores ambientales.....	8
Factores genéticos.....	8
Características de la DT1 temprana	9
Sobreexpresión de HLA	9
Estrés de retículo endoplasmático.....	10
Inflamación y Apoptosis	11
Respuesta a interferones de Tipo I.....	12
Vía de señalización JAK/STAT	13
Terapias actuales.....	14
Nuevos avances.....	15
Inhibición de TYK2 como terapia preventiva	16
Antecedentes y Objetivos	18
Materiales y Métodos.....	19
Cultivo celular línea EndoC-βH1	19
Tratamientos celulares.....	20
Ensayo de Viabilidad celular	21
<i>Western Blot</i>	21
Extracción ARNm, retrotranscripción y qPCR	24
Análisis estadísticos.....	27
Resultados	28
Zasocitinib protege de la apoptosis inducida por IFNα e IL-1β en EndoC-βH1	28
Zasocitinib inhibe la fosforilación de STAT1 mediada por IFNα en EndoC-βH1	28
Zasocitinib previene la sobreexpresión de MX1 y HLA-ABC en EndoC-βH1	29
Zasocitinib previene la inflamación en EndoC-βH1	30
Zasocitinib no previene el estrés de retículo en EndoC-βH1	31
Discusión	32
Conclusiones y proyección futura	34
Bibliografía	35

Introducción

La diabetes es un conjunto de enfermedades metabólicas en las que se produce una desregulación de los niveles de glucosa en sangre debido a una deficiencia en la producción de insulina y/o sensibilidad de los tejidos hacia esta hormona, situación que no es posible regular sin una intervención externa. La heterogeneidad de esta enfermedad genera la necesidad de tener una amplia clasificación de tipos (Mori et al., 2025), aunque clásicamente existen 3 formas en las que se suele clasificar más comúnmente, la diabetes tipo 2 (DT2), la diabetes gestacional y la diabetes tipo 1 (DT1).

En lo que respecta a la diabetes de tipo 2, es el tipo más frecuente, con alrededor del 90% de los casos totales de diabetes (Genitsaridi et al., 2026). Esta se caracteriza por una resistencia a la insulina generada en los diferentes tejidos diana de esta hormona que deriva en una sobrecarga por parte de las células β pancreáticas y, como consecuencia, la pérdida de masa de célula β funcional. A pesar del peso que tiene la predisposición genética en el desarrollo de DT2, está principalmente condicionada por factores ambientales que favorecen su evolución, como podría ser el estilo de vida sedentario y la obesidad (Galicia-García et al., 2020).

Cuando se habla de diabetes gestacional, se trata del fallo en la regulación de la glucosa en mujeres durante el embarazo. Debido a que los requerimientos energéticos del feto van aumentando conforme crece, gran parte del flujo de glucosa se dirige hacia el feto, aumentando la resistencia a la insulina en la madre para favorecer este proceso. Para combatirlo, aumenta la masa de células β pancreáticas y se secreta más insulina, y en caso de que no ocurra o suceda incorrectamente, se desarrollaría diabetes (Baeyens et al., 2016).

Pese a la variedad de tipos que se engloban en este desorden metabólico, este trabajo estará centrado en la diabetes tipo 1. La DT1 es una enfermedad autoinmune en la que se produce un ataque hacia las células β productoras de insulina, desencadenando en su inflamación y posterior muerte. Debido a la pérdida paulatina de este tipo celular se reduce drásticamente la producción de insulina, llevando al organismo a una situación de hiperglucemia. Para describir la evolución de esta patología hasta que una persona “debuta” con DT1, se han establecido modelos que dividen el desarrollo en 3 etapas (Insel et al., 2015; Katsarou et al., 2017):

Las primeras dos fases se consideran etapas presintomáticas. Concretamente, la primera es un estado de normoglicemia, en el que se detectan dos o más autoanticuerpos característicos de la

DT1, reconocedores de ciertos autoantígenos típicos de las células β como la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GADA), insulina, proteína tirosina fosfatasa IA-2 y/o transportador de zinc 8 (ZnT8) (Kawasaki, 2023). Aunque en esta fase se pierde masa de célula β pancreática, no se presentan síntomas ni irregularidades en los niveles de glucosa.

En la fase 2, además de la presencia de autoanticuerpos como los anteriormente comentados, se produce una disglicemia por una intolerancia a la glucosa como consecuencia del ataque de los linfocitos T a las células β de los islotes. Se califica como disglicemia siempre que la glucosa en sangre supere los 100 mg/dL en ayunas o los 140 mg/dL tras 2 horas de una prueba de tolerancia a la glucosa, aunque también es posible considerar niveles mayores a 200 mg/dL a tiempos menores del test (Insel et al., 2015).

En la tercera etapa se manifiestan los síntomas clásicos de la DT1, por una pérdida de, aproximadamente, un 60-90% de masa funcional de células β . La sintomatología incluye poliuria (producción excesiva de orina), polidipsia (sed excesiva) y polifagia (mucha necesidad de comer), entre otras manifestaciones clínicas, a lo que se le deben sumar los estados de hipoglucemia y cetoacidosis, situaciones que pueden comprometer enormemente la salud de la persona (Aamodt & Powers, 2025).

Epidemiología

La Federación Internacional de Diabetes (FID) estimaba en 2025 que un 11,1% de la población adulta vive con diabetes, cerca de 589 millones de personas, cifra que se espera aumente hasta 853 millones para el año 2050, lo que supondría un aumento de un 46% (International Diabetes Federation, 2025). En cuanto a la DT1, en 2021 se estimaba que el número de individuos con esta condición rondaba los 8.4 millones (Gregory et al., 2022), cifra que para el año 2025 ha aumentado hasta 9,5 millones (de los cuales 1,9 millones son menores de 20 años), lo que significa un aumento del 13% en estos 4 años (Ogle et al., 2025). A nivel global existe una incidencia de aproximadamente 513.000 nuevos casos por año, estimando 14,7 millones en el año 2040 (Ogle et al., 2025). En lo que respecta a la mortalidad, se calcula que la DT1 pudo ser la causa directa del fallecimiento de unas 174.000 personas, entre las cuales un 27,3% se asociaban a casos no diagnosticados (Ogle et al., 2025).

En este contexto, España se encuentra como uno de los países europeos con mayor prevalencia de personas diabéticas, con casi 5 millones de personas que sufren esta condición (Genitsaridi et al.,

2026) y una mortalidad anual que llega a las 22.125 personas (Diabetes Atlas, 2024). Centrándonos en DT1, esta supone un 10% de los casos de diabetes en España, con una prevalencia total de casi 170.000 personas (DiabetesCERO, 2024)(Sociedad Española de Diabetes, s. f.).

Etiología

Existen dos factores que son determinantes para la generación de un ambiente inflamatorio en la célula β , el trasfondo genético de la persona y agentes ambientales a los que está expuesto, siendo el que presenta evidencias más sólidas las infecciones virales por coxsackievirus B. La hipótesis más aceptada para explicar el ataque autoinmune hacia las células β pancreáticas es un “diálogo” erróneo entre estas y las células del sistema inmune, ya que la infección promueve un ambiente de citoquinas proinflamatorias y quimiocinas en los islotes, que induce una expresión aumentada del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) por parte de las células β , haciendo que los linfocitos autorreactivos las puedan reconocer con mayor probabilidad y llevando a la inflamación en el entorno de los islotes (insulitis). Con el desarrollo de este ataque, nuevas células inmunitarias son reclutadas por la liberación de antígenos de las células β en respuesta a la inflamación persistente formada en su entorno. Como resultado, cada vez más linfocitos se infiltran en los islotes (linfocitos T CD4+ y CD8+) y, a lo largo de un periodo de tiempo que puede llevar desde varios meses hasta años, lleva finalmente a la destrucción de gran parte de células β (Marroquí et al., 2021; Van Belle et al., 2011).

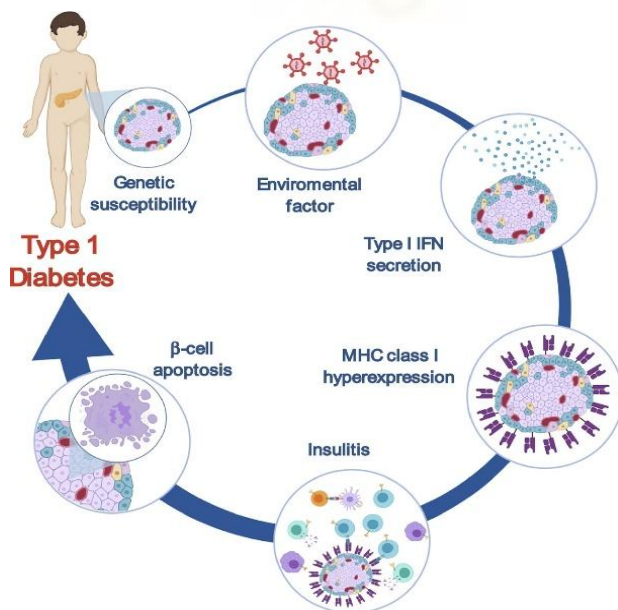


Figura 1. Secuencia de eventos para el debut de diabetes tipo I. Cuando un individuo presenta susceptibilidad genética, existen factores ambientales (generalmente una infección viral) que desencadena una inflamación en las células β del páncreas, marcada por la liberación de interferones de tipo I. La inflamación promueve la expresión del MHC-I, detectable por las células inmunitarias, las cuales promueven un ataque autoinmune que desencadena una inflamación sostenida en el tiempo (insulitis), pudiendo llevar a la muerte celular. Imagen tomada de: (Marroquí et al., 2021)

Factores ambientales

Como ya se ha comentado, la DT1 se asocia muy frecuentemente con la infección por coxsackievirus B, habiéndose demostrado en varios estudios una mayor presencia de proteínas virales en las células productoras de insulina en personas con DT1 (Richardson et al., 2009; Hodik et al., 2016). La infección viral es la que desencadena una serie de eventos que promueven la autoinmunidad frente a las células β pancreáticas. Esta infección es leve pero persistente en el tiempo, por lo que la producción de proteínas virales es baja inicialmente, aunque suficiente para inducir la respuesta antiviral y producción de interferones (IFN) de tipo I (IFN-I) en las células infectadas. Como consecuencia del aumento local de IFN-I, se produce la sobreexpresión de las proteínas del MHC-I, facilitando el reconocimiento por parte de células del sistema inmune y acabando en última instancia con gran parte de la masa de célula β , la cual presenta una tasa de proliferación extremadamente baja (de Beeck & Eizirik, 2016; Cnop et al., 2010).

Además, la muerte celular también se ve acelerada por la continua liberación de citoquinas proinflamatorias (IFN γ , IL-1 β u otros tipos de IFN-I) por parte de las células dendríticas, al reclutar linfocitos T sin necesidad de un reconocimiento antigénico específico (de Beeck & Eizirik, 2016).

Factores genéticos

Cuando la infección viral se suma a la susceptibilidad genética de la persona, pueden aumentar las probabilidades de que se dé el proceso autoinmune. En DT1, existen genes que generalmente se expresan tanto en células inmunes como en células β , relacionados con la inmunidad y respuesta antiviral, y cuya expresión está vinculada al desarrollo de la enfermedad, son los conocidos como genes candidatos. Esta susceptibilidad genética está relacionada con los polimorfismos de nucleótidos únicos (SNPs), variaciones en el genoma que pueden llevar a cambios en la función o expresión génica y que son detectados por estudios de asociación de genoma completo (GWAS) (Антонова et al., 2023). Los genes candidatos y sus distintas variantes son dianas esenciales tanto para entender los mecanismos por los que se da la disfunción y muerte de las células β , como para establecer nuevas terapias alrededor de estas rutas (Størling & Pociot, 2017). De entre los más de 80 *loci* que se han relacionado con el riesgo de desarrollar DT1 (Onengut-Gumuscu et al., 2025), ha destacado el gen HLA, el cual se asocia con más del 40% del riesgo genético de DT1 debido a los cambios generados en el reconocimiento antigénico de las células T (Santin & Eizirik, 2013).

Uno de los genes candidatos que más se ha destacado en los últimos años es *TYK2*. Este gen sintetiza la proteína tirosina quinasa 2 (TYK2) que forma parte de la familia de las Janus quinasas (JAK),

conformada por otras 3 proteínas: JAK1, JAK2 y JAK3 (X. Hu et al., 2021). Por su papel en la transducción de la señal de interferones de tipo I, este gen ha tenido gran relevancia en muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes como esclerosis múltiple o artritis reumatoide, y la DT1 se ha sumado entre ellas. Estudios previos han determinado que el silenciamiento de TYK2 ayuda a evitar el reconocimiento de las células β por parte del sistema inmune, previniendo la sobreexpresión de HLA o CXCL10, que entre otros factores, forman parte de las causas que hacen a estas células susceptibles a un ataque propio (Marroqui et al., 2015). Esto hace a TYK2 e IFN α dos actores cruciales en el desarrollo de DT1, sumándose como candidatos para el estudio de la prevención de la enfermedad.

Características de la DT1 temprana

Existen 3 marcadores principales de los islotes pancreáticos característicos de la DT1 temprana: sobreexpresión de HLA, estrés de retículo endoplasmático (*ER stress*) e inflamación que deriva en apoptosis. Estos tres signos aparecen por la acción de las citoquinas liberadas tras el proceso de infección, destacando IFN α como el actor principal más temprano que desencadena estos tres estados (Van Belle et al., 2011). Sin embargo, procesos como la apoptosis de la célula β no pueden ser llevados a cabo con el impacto único de IFN α , por lo que también es común ver el efecto sinérgico con otras citoquinas como IL-1 β (Marroqui et al., 2017).

Sobreexpresión de HLA

Aunque en un inicio la sobreexpresión de HLA no se tomaba como una marca de la autoinmunidad en pacientes de DT1, posteriores estudios demostraron su relación con el ataque hacia las células β pancreáticas. En muestras de páncreas procedentes de pacientes con DT1, niveles elevados de ARN y proteína de HLA de clase I se midieron en islotes conteniendo insulina, un suceso que no se veía en muestras de donantes sanos (Richardson et al., 2016). Además, la producción de β 2-microglobulina también aumentaba, algo que cobra sentido al ser un componente necesario en la formación del complejo mayor de histocompatibilidad. Por otro lado, se evidencia su contribución a la susceptibilidad al ataque ya que se observa una coincidencia entre la sobreexpresión de *HLA-ABC* y STAT1 (Richardson et al., 2016). Es por eso que en el contexto de DT1, queda cada vez más respaldada la influencia de los IFN sobre la hiperexpresión de HLA-I, mostrando altos niveles en tejido pancreático antes y después del debut de diabetes, frente a los niveles normales de donantes sanos. Como se ha explicado anteriormente, esto deriva en una presentación antigénica anormal y posterior muerte celular (Apaolaza et al., 2021).

Estrés de retículo endoplasmático

Existen diversos motivos por los que el retículo endoplasmático puede verse alterado (Eizirik, Cardozo, et al., 2008). Esta perturbación supone una falta de capacidad por parte del retículo para satisfacer la excesiva demanda de síntesis y procesamiento de proteínas, produciendo proteínas incorrectamente plegadas como resultado (Eizirik et al., 2020). Para recuperar la homeostasis, se produce una respuesta a la acumulación de proteínas mal plegadas.

Todo comienza con los transductores transmembrana IRE1 y PERK, cuya activación inicia dos vías de señalización en reacción al estrés. Por una parte, IRE1 es capaz de generar el factor de transcripción XBP1s gracias a su actividad endorribonucleasa, la cual lleva a cabo el splicing del ARNm de XBP1. XBP1s activa la expansión del retículo y promueve el funcionamiento de la maquinaria del retículo asociada a la degradación. Otra de las funciones que toma IRE1 es la de degradar los mensajeros que se encuentran en el retículo, disminuyendo la demanda de traducción proteica (Eizirik et al., 2020).

Por otro lado, PERK fosforila la subunidad α del factor eucariótico de inicio de la traducción 2 (eIF2), reduciendo la traducción general de proteínas, pero permitiendo la de otros ARNm específicos como CHOP o ATF4. Estos factores de transcripción regulan la respuesta al estrés oxidativo, transporte de aminoácidos y apoptosis (Eizirik et al., 2020).

Aunque estas son las dos vías principales, existe una tercera vía de señalización que comienza con la disociación de ATF6 de BiP. Al separarse, ATF6 pasa del retículo endoplasmático al aparato de Golgi, donde sufre una serie de transformaciones hasta conseguir la forma ATF6-N, la cual actúa como un factor de transcripción que transloca al núcleo para promover la expresión génica de chaperonas. Estas chaperonas mejoran el empaquetamiento de las proteínas mal plegadas (Kumar et al., 2026).

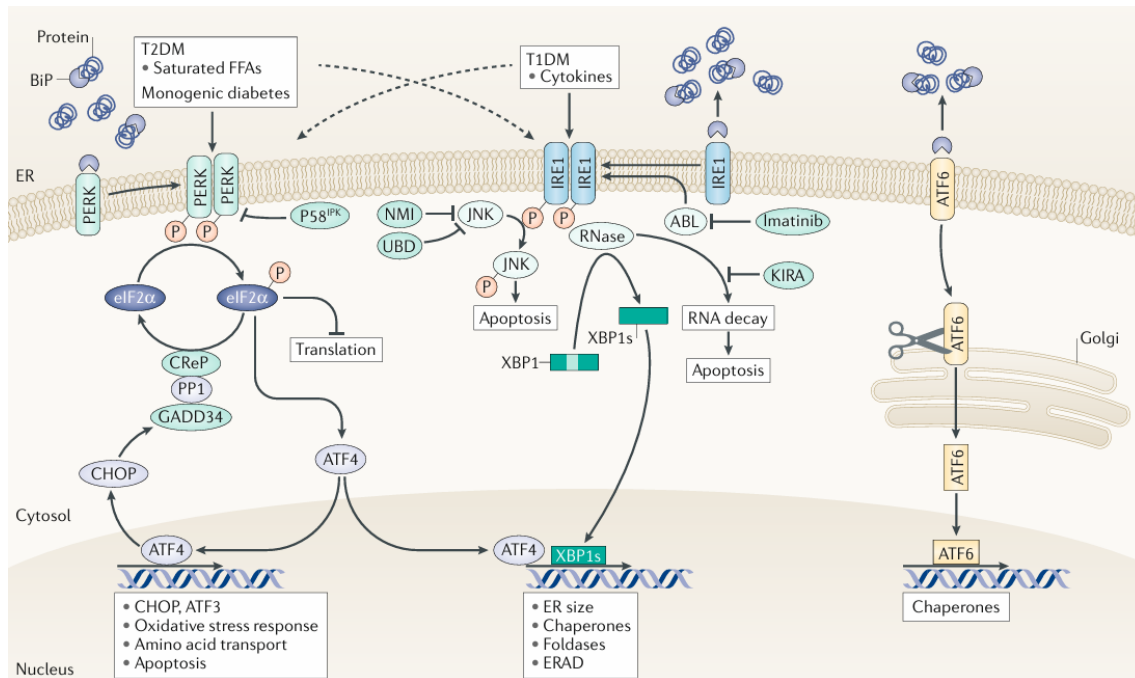


Figura 2. Representación de la señalización de estrés de retículo en diabetes. Por una parte, las vías clásicas activadas por las proteínas PERK e IRE1, para la síntesis de factores de transcripción y activación de procesos asociados a la degradación. Estas rutas de señalización se pueden dar tanto en DT1 como tipo 2. Por otra parte, la modificación de ATF6 a través del aparato de Golgi conforma otra de las respuestas frente al estrés de retículo. Imagen tomada de: (Eizirik et al., 2020)

El estrés de retículo endoplásmico puede ser una de las dianas principales de muchas de las nuevas estrategias terapéuticas. Cuando se da de forma continuada, en lugar de producirse una respuesta protectora, comienzan a producirse señales proapoptóticas que llevan finalmente a la muerte de la célula β (Kumar et al., 2026).

Inflamación y Apoptosis

Como se ha ido desarrollando, el proceso inflamatorio puede llevar a la muerte de la célula β si este no se resuelve de la forma correcta. En este proceso se infiltran macrófagos y otras células mononucleares en los islotes, que liberan citoquinas (IFN- γ , IL-1 β o TNF) y provocan la liberación de quimiocinas (CXCL10, CCL2, entre otras) por parte de la célula β pancreática (regulada por los factores de transcripción STAT-1 y NF κ B). En casos donde esta inflamación no se para, se llega a tener una inflamación progresiva y muerte celular en muchos casos (Eizirik et al., 2009; Eizirik, Moore, et al., 2008). Una de las citoquinas más importantes en DT1 es IFN α , cuya contribución en la sensibilización y muerte de las células β ha sido demostrada como clave en las etapas iniciales de esta enfermedad (Marroqui et al., 2017).

Por otra parte, otro factor a destacar ya tratado anteriormente es la relación entre el estrés de retículo y la apoptosis celular. Cuando el estrés en la célula se prolonga demasiado en el tiempo, las respuestas que tiene la célula frente al mismo no se desarrollan de forma usual, dejando la respuesta UPR como insuficiente y activando procesos proapoptóticos, a través de genes como CHOP o proteínas como las caspasas. El problema está en que, al morir, las células pueden seguir alimentando el ataque autoinmune, ya que se libera material y proteínas acumuladas que se presentan como autoantígenos y neoantígenos a las células inmunes (por ejemplo insulina mal plegada que se acumula en el RE), manteniendo un bucle que comunica las células del sistema inmune con las células β pancreáticas (Eizirik et al., 2009; Srivastava et al., 2026).

Respuesta a interferones de Tipo I

Existen tres clases de interferones, agrupados según su localización cromosómica, homología estructural y según la interacción con su receptor (Raftery & Stevenson, 2017): En los interferones de tipo I se incluyen IFN α y sus 13 subtipos, IFN β , IFN ϵ , IFN ω e IFN κ , mientras que en las otras clases se encuentran IFN γ en los interferones de tipo II, y los 4 subtipos de IFN λ (IFN λ 1-4) entre los interferones de tipo III (George et al., 2020). De entre esta lista de citoquinas, IFN α es una de las más relevantes en las etapas iniciales del desarrollo de la DT1 (Marroqui et al., 2017).

Entre los diferentes tipos de interferón, IFN α es el centro de muchos estudios por su crucial papel en el desarrollo de la autoinmunidad y posterior destrucción de la célula β pancreática, sobre todo en las fases más tempranas de la DT1 (Van Belle et al., 2011; Marroqui et al., 2017). Casi todas las células son capaces de producir interferones de tipo I, sin embargo, son las células dendríticas plasmacitoides (pDCs) las principales responsables de hacerlo cuando se trata de procesos de respuesta inmune como una respuesta antiviral (Swiecki & Colonna, 2011). Por ello es esencial entender cómo funciona su señalización y saber cómo actuar sobre la misma.

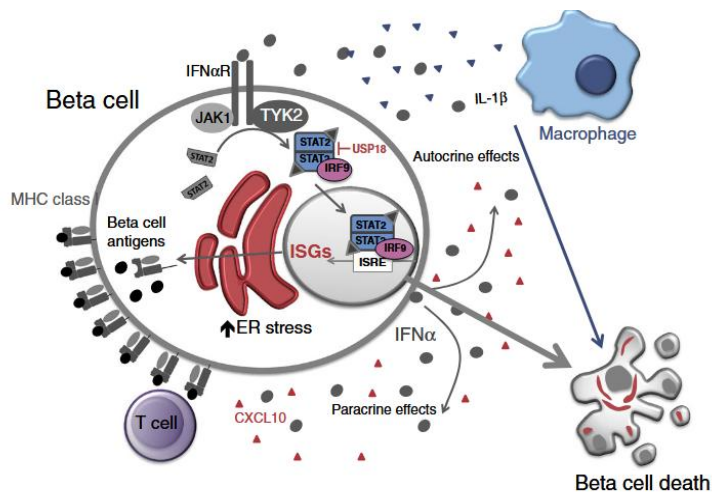


Figura 3. Esquema representativo de los efectos del IFN α sobre la célula β pancreática. La unión de IFN α a su receptor inicia una cascada de señalización que induce la activación de genes estimulados por interferón (ISGs) y, como consecuencia, un aumento del estrés de retículo y liberación de citoquinas y quimiocinas, lo que aumenta la susceptibilidad al ataque autoinmune. El resultado de la actividad de las citoquinas proinflamatorias es la apoptosis de la célula β . Imagen tomada de Marroquí et al., 2017.

Vía de señalización JAK/STAT

Para que se inicie la ruta de señalización, IFN α se une a un receptor transmembrana específico, el receptor de IFN α (IFNAR), el cual está compuesto de dos subunidades: IFNAR1 e IFNAR2 (Platanias, 2005). Dado que estas dos subunidades no poseen actividad quinasa propia, cada una está asociada con una de las proteínas de la familia JAK: IFNAR1 se encuentra asociada a TYK2, mientras que IFNAR2 se asocia a JAK1 (Raftery & Stevenson, 2017; Guzman-Llorens et al., 2026; Platanias, 2005).

Siguiendo la vía canónica de señalización, la unión de IFN α a su receptor induce su dimerización y consecuentemente una autofosforilación y activación de las proteínas JAK. Seguidamente, las formas activas de JAK1 y TYK2 fosforilan al receptor, formando un sitio de unión que permite el reclutamiento y la fosforilación de los factores de transcripción transductor de señal y activador de transcripción 1 (STAT1), STAT2, STAT3 y STAT5 (Marroquí et al., 2021; Q. Hu et al., 2023). Cuando STAT1 y STAT2 son fosforilados, forman un heterodímero que se une a IRF9, formando a su vez el complejo Factor 3 de genes estimulados por interferón (ISGF3). El complejo ISGF3 se transloca al núcleo y es capaz de unirse a una secuencia del ADN específica que corresponde con los elementos

reguladores de los genes estimulados por interferón (ISGs), conocidos como elemento regulatorio estimulado por interferón (ISRE) (Raftery & Stevenson, 2017).

Uno de los ISGs que forma parte de la respuesta antiviral se trata de *MX1*, el cual codifica para una proteína *MX dynamin-like GTPase 1*, que se encarga de la inhibición del desensamblaje del virus (Marroquí et al., 2021).

Además de la vía clásica, la unión de interferones de tipo I a su correspondiente receptor también activa otras alternativas como las vías de las MAP quinasas o de PI3K/mTOR (Mazewski et al., 2020).

Terapias actuales

Las terapias convencionales más comunes para DT1 están dirigidas a un mantenimiento directo de los niveles de glucosa mediante la regulación de la secreción de insulina. Normalmente requieren que el paciente monitoree el nivel de glucosa sanguíneo para realizar la inyección de insulina subcutánea según corresponda. Sin embargo, este tipo de terapias están dirigidas a revertir los efectos de la enfermedad cuando esta ya ha debutado, pero no a prevenir su desarrollo. Es por lo que, actualmente, se está haciendo mucho hincapié en el desarrollo de terapias que están centradas en retrasar o impedir el desarrollo de la DT1.

El tratamiento más clásico y común de la DT1 es sin duda esta inyección manual de insulina por parte del paciente. Afortunadamente, para sustituir la inyección directa, surgieron las bombas de insulina como una nueva tecnología cómoda y segura, que forma un bucle cerrado automático que ayuda a regular los niveles de glucosa en sangre con menos dificultad y reduce el riesgo de sufrir complicaciones de la enfermedad (Akil et al., 2021; Fan et al., 2025). Para mayor innovación, se acuñó posteriormente el término de “páncreas artificial”, al combinar estas bombas de insulina con un sistema de monitorización continua de glucosa (CGM) que reduce al mínimo la implicación del individuo en la inyección de insulina (Lal et al., 2019). Algunos de estos sistemas incluso pueden

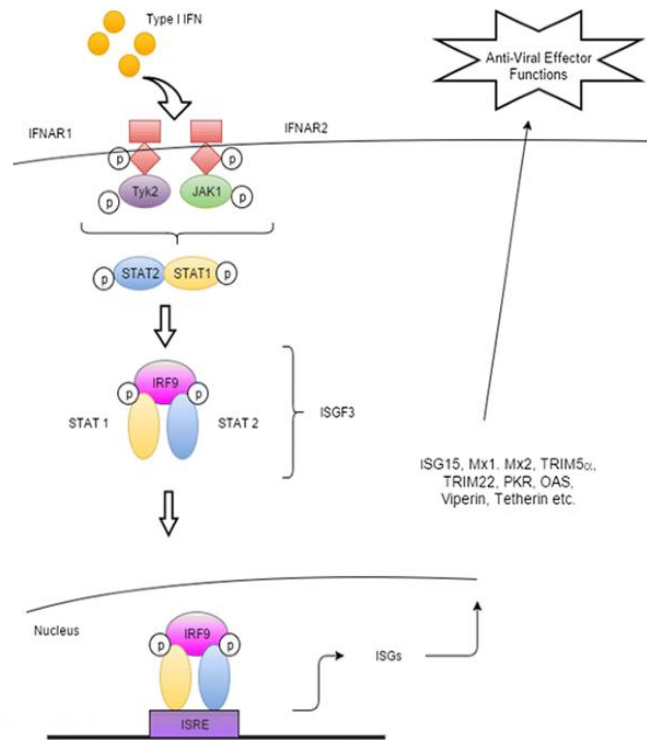


Figura 4. Representación de la vía de señalización JAK/STAT clásica inducida por interferones de tipo I. Imagen tomada de: (Raftery & Stevenson, 2017)

tener modos de secreción de glucagón, para que el riesgo de hipoglucemia se reduzca lo máximo posible, adaptándose a las necesidades energéticas durante todo el día (Lal et al., 2019).

Adicionalmente a la introducción de insulina, se ha investigado la combinación de diferentes fármacos como la metformina y pramlintida con insulina para controlar la glucosa en sangre sin riesgo asociado. Cabe destacar que este método, al igual que la inyección única de insulina, constituyen una solución “temporal” para evitar complicaciones momentáneas ligadas a la DT1, pero no una cura total de la condición (Akil et al., 2021).

Como único tratamiento preventivo aprobado actualmente en Europa existe teplizumab (comercializado como Teizeild™). Este fármaco se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido a uno de los componentes de los receptores de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, las proteínas CD3 y, aunque su mecanismo de acción no está completamente esclarecido, su actividad revierte el desbalance entre señales proinflamatorias y antiinflamatorias (Thakkar et al., 2023; Federación Española de Diabetes, 2026). Ensayos clínicos han demostrado que este medicamento puede retrasar hasta 2 años el debut de DT1 en pacientes con riesgo de padecerla, en comparación al diagnóstico con el grupo placebo (Herold et al., 2019).

Nuevos avances

La terapia génica se ha convertido en una de las más prometedoras para lidiar con el desarrollo de DT1. Los estudios preclínicos hasta ahora se han centrado sobre todo en retrasar o prevenir el “debut” de diabetes con la sobreexpresión de genes que protegen a las células β del ataque autoinmune, promover su proliferación y supervivencia, regular la respuesta inmune o directamente inducir la secreción de insulina por parte de otros tejidos (Akil et al., 2021).

Para el avance en terapias génicas e inmunoterapias siempre se ha utilizado principalmente el modelo de ratón diabético no obeso (*non-obese diabetic*, NOD), por el gran parecido que tienen con los humanos en lo que se refiere al “debut” de diabetes (Aldrich et al., 2020). Al igual que ocurre en humanos, la enfermedad se desarrolla con un ataque autoinmune frente a las células β , llevando a la insulinitis, hiperglucemia y derivando en complicaciones de salud como las comentadas en humanos. En contraparte, hay muchas diferencias que no permiten extrapolar todos los resultados preclínicos al ensayo clínico, como la disparidad en la incidencia de diabetes entre machos y hembras o los autoantígenos que reconoce el sistema inmune (Aldrich et al., 2020).

Otra de las técnicas exploradas es el uso de células madre, debido a su capacidad de regenerarse continuamente y diferenciarse en muchos tipos celulares, estas pueden ser aprovechadas para renovar las poblaciones de células productoras de insulina. El tipo de terapia puede cambiar según el origen del que provienen las células madre. Algunos de los ejemplos más exitosos son las estrategias que implican la implantación de células madre embrionarias (ESCs) o pluripotentes inducidas (iPSCs), modificadas y crecidas en el laboratorio, con las cuales se ha conseguido recuperar la función de las células productoras de insulina en algunos casos (Ziegler et al., 2025; Reichman et al., 2025). No obstante, todavía son objeto de estudio por el riesgo que puede suponer para la salud del paciente (Ziegler et al., 2025).

Inhibición de TYK2 como terapia preventiva

Dada la falta de tratamientos preventivos en el mercado para DT1, muchos de los avances se han enfocado en determinar la causa de la enfermedad y cuáles son los puntos clave donde incidir para evitar el inicio del ataque autoinmune y destrucción de la célula β pancreática. Esto va más allá de las terapias anteriormente expuestas, al estar enfocadas directamente en las rutas de señalización celulares que las llevan a su reconocimiento y muerte.

Un punto de interés es la cascada de señalización JAK/STAT, una ruta que está directamente relacionada en algunas patologías como respuesta protectora, mediando la respuesta inmune innata y adaptativa frente a un daño o infección. Los *JAKinhibs* aparecen como una estrategia para bloquear la señal inducida por las citoquinas proinflamatorias. Las proteínas de la familia JAK, se encargan de la transducción de la señal del receptor de interferón hasta el interior de la célula, por lo que su inhibición resulta interesante para evitar la activación de los genes inducidos por interferón (Xin et al., 2020), reduciendo los efectos de la inflamación en la célula β pancreática (Zhou et al., 2025). Algunos de estos inhibidores han sido probados anteriormente en otras enfermedades autoinmunes como son la psoriasis (Works et al., 2014); (Strober et al., 2023) o artritis reumatoide (Semerano et al., 2016), obteniendo resultados prometedores. En DT1 se han probado variedad de inhibidores que actúan sobre las proteínas JAK, concretamente como competidores del sitio catalítico. Algunos ejemplos son AZD1480 o upadacitinib, inhibidores específicos de las proteínas JAK1-3 que compiten por el ATP y han demostrado la reversión de los efectos de la enfermedad en ratones NOD, al igual que otros que ya habían sido aprobados como ruxolitinib y baricitinib (Zhou et al., 2025). Baricitinib, por ejemplo, es uno de los inhibidores estudiados en DT1 que ha mostrado efectos positivos en el mantenimiento de la función de la célula β , tras analizar los niveles de péptido

C en pacientes recién debutados con DT1 (Waibel et al., 2023; Zhou et al., 2025). A raíz de ello, se han preparado otros proyectos que han llevado a varios JAKinhibs, entre ellos el propio baricitinib, hasta fase 3 de ensayos clínicos para el tratamiento de la DT1 (revisados en Guzman-Llorens et al., 2026). TYK2 es una de las proteínas de la familia JAK, la cual ha sido objeto de estudios recientes por su importancia en la transducción de la señal inducida por IFN-I. La susceptibilidad a DT1 y otras enfermedades autoinmunes está estrechamente relacionada con los SNPs del gen TYK2, observando que algunos de estos cambios como el identificado como “rs2304256” disminuyen la actividad de TYK2 y contribuyen a la prevención de la enfermedad (Marroqui et al., 2015). Esto ha abierto las puertas a la investigación de nuevos inhibidores con alta potencia y especificidad frente a este gen.

Como alternativa, han surgido nuevos inhibidores que son específicos para la diana TYK2, que en lugar de unirse al dominio catalítico lo hacen en el dominio pseudoquinasa de la proteína (Zhou et al., 2025). Deucravacitinib es una de las moléculas que ha demostrado resultados positivos en célula β humana, previniendo la sobreexpresión de genes inducidos por interferón y protegiendo de la muerte celular, ambos inducidos por IFN α , por lo que se ha presentado como un fármaco con gran potencial para interferir con la patogénesis de la enfermedad (Dos Santos et al., 2023). Estudios posteriores también han demostrado la efectividad de este inhibidor en modelos de ratón RIP-LCMV-GP y NOD, trasladando a *in vivo* los resultados de la inhibición de TYK2 que habían sido obtenidos *in vitro* (Syed et al., 2025). Se observó que la inhibición de TYK2, como bien se hipotetizaba, resultaba protectora para las células β pancreáticas y reducía la activación del sistema inmunitario en casos de DT1 (Syed et al., 2025).

Antecedentes y Objetivos

Este trabajo surge de la necesidad de desarrollar nuevas terapias preventivas para la DT1, dada la falta de alternativas comercializadas que existe en la actualidad. Concretamente, se centra en la inhibición de TYK2, una proteína diana crucial en la cascada activada por IFN-I y cuyo silenciamiento ha demostrado previamente resultados optimistas en relación a la supervivencia de la célula β pancreática (Syed et al., 2025). Ya que muchos de los inhibidores dirigidos al dominio pseudoquinasa JH2 de TYK2 han funcionado en otras enfermedades inflamatorias y autoinmunes, su uso tiene gran interés para evitar que patologías como la DT1 se desarrollen hasta las manifestaciones clínicas.

El objetivo de este trabajo es probar la capacidad de zasocitinib, un inhibidor específico de TYK2 que ha entrado recientemente en fase II del desarrollo clínico para el tratamiento de pacientes con psoriasis (Elbuluk et al., 2026), para inhibir en célula β pancreática la cascada de señalización inducida por IFN α . Se busca estudiar la eficacia de zasocitinib para interrumpir la vía de señalización de IFN-I, evaluando su actividad protectora en las células β pancreáticas y capacidad para prevenir la inflamación y ataque autoinmune en diabetes de tipo 1. Para ello se tendrán en cuenta los siguientes subobjetivos:

1. Evaluar el efecto protector de zasocitinib ante estímulos proapoptóticos observados en las etapas iniciales de la DT1 mediante un ensayo de viabilidad celular.
2. Determinar el efecto del inhibidor sobre la fosforilación de STAT1 inducida por IFN α mediante *western blot*.
3. Estudiar los efectos de zasocitinib sobre la expresión de genes implicados en los tres marcadores principales de DT1 temprana: sobreexpresión de HLA, estrés de retículo endoplásmico e inflamación e inflamación.

Materiales y Métodos

Todos los experimentos realizados en este trabajo están aprobados por el comité ético de la UMH con el código TFG.GBI.LME.DJS.260415.

Cultivo celular línea EndoC-βH1

Para la realización de este trabajo se ha empleado la línea de célula β pancreática EndoC-βH1 (RRID: CVCL_L909, Univercell-Biosolutions), derivada de yemas pancreáticas embrionarias humanas (Ravassard et al., 2011) cuyo mantenimiento utilizó un medio propio con la composición que se describe en las Tablas 2 y 3. Se sembraron células en placas de 24 pocillos para los experimentos de activación proteica (*western blot*) y en placas de 96 para experimentos de viabilidad y expresión génica (RT-qPCR), en las cantidades que se muestran en la Tabla 1. Para ambos tipos de experimento se mantuvo las células de forma estable a 37 °C, una humedad relativa del 95 % y con un 5 % CO₂.

Western blot (células/cm ²)	1,1 · 10 ⁵
RT-qPCR (células/cm ²)	1,4 · 10 ⁵
Viabilidad (células/cm ²)	1,4 · 10 ⁵

Tabla 1. Se muestra la densidad celular con la que se sembraron las células de la línea EndoC-βH1 para los distintos experimentos.

Compuesto	Concentración
Transferrina humana (Sigma)	5,5 µg/mL
Selenito de sodio (Sigma)	6,7 ng/mL
BSA, libre de FFA (Roche Diagnostics)	2 % (w/v)
Nicotinamida	10 mM
β-mercaptoetanol (Sigma)	50 µM
Penicilina	100 U/mL
Estreptomicina	100 µg/mL
DMEM (1X) Low Glucose, 5,56 mM (Life Technology)	-

Tabla 2. Composición medio EndoC-βH1

Compuesto	Concentración
Matriz extracelular (Sigma)	1 % (v/v)
Fibronectina de plasma bovino (Sigma)	2 µg/mL
Penicilina-Estreptomicina	100 U/mL (ambos)
DMEM (1X) High Glucose, 25 mM (Life Technology)	-

Tabla 3. Composición del recubrimiento de placas de EndoC-βH1

Tratamientos celulares

Ya que buscamos observar el efecto protector del inhibidor específico de TYK2 las células fueron expuestas al IFN- γ a 1000 U/mL en presencia o en ausencia de la citoquina proinflamatoria IL- 1β a 50 U/mL, concentraciones previamente establecidas para la inducción de apoptosis en células β pancreáticas humanas (Marroqui et al., 2017).

Las células utilizadas en los ensayos de expresión génica y viabilidad se trataron con ambas citoquinas proinflamatorias para inducir muerte celular y estudiar el efecto protector de zasocitinib. Sin embargo, las células destinadas a análisis mediante western blot fueron tratadas únicamente con IFN γ humano para medir la expresión de las proteínas implicadas en la ruta de señalización de IFN γ , concretamente, la forma fosforilada de STAT1 (P-STAT1)

Se utilizaron dos concentraciones distintas de inhibidor (10 nM y 1000 nM) elaboradas a partir de un stock preparado en DMSO (el cual es utilizado como vehículo) y mediante diluciones en medio de cultivo suplementado con 2 % FBS inactivado. Dichas concentraciones se basan en la eficacia observada con otros inhibidores de la familia JAK de la literatura previa (Dos Santos et al., 2023).

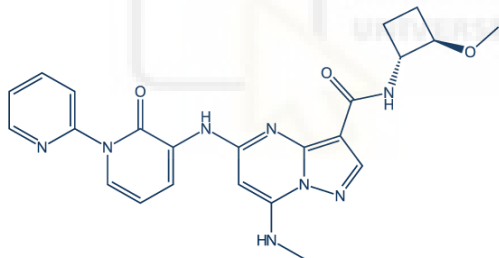


Figura 5. Estructura química del inhibidor zasocitinib utilizado en este trabajo.

El procedimiento realizado fue el siguiente: Primero se hizo un pretratamiento durante 1 hora cambiando el medio de las células por medio EndoC con 2 % FBS inactivado con el vehículo o el inhibidor a las concentraciones indicadas (Figura 6). Posteriormente, este fue sustituido por nuevo medio de EndoC con 2 % FBS inactivado (para los no tratados) junto con el vehículo o zasocitinib a las concentraciones correspondientes en presencia o ausencia de citoquinas. Las células destinadas para *western blot* fueron tratadas con IFN γ durante 1 hora y las células para ensayos de viabilidad y RT-qPCR fueron tratadas con IFN γ + IL- 1β durante 24 horas.

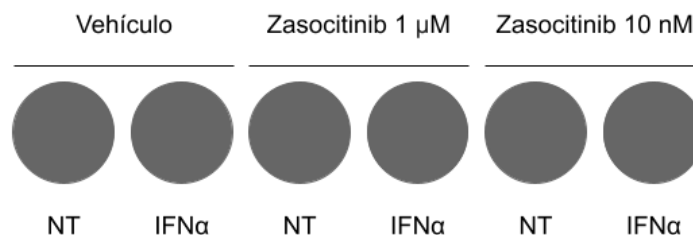


Figura 6. Esquema representativo de los tratamientos que se realizaron. Las células recibieron un pretratamiento de 1 hora con el vehículo o inhibidor a las concentraciones mostradas (1 µM y 10 nM). Posteriormente, las células no se trataron (NT), fueron tratadas 1 h con IFNα (1000 U/mL), en caso de las células destinadas a western blot, o bien, aquellas que se utilizarían para ensayos de viabilidad y RT-qPCR, se incubaron durante 24 h con IFNα (1000 U/mL) e IL-1β (50 U/mL) en presencia o ausencia de las distintas concentraciones del inhibidor.

Ensayo de Viabilidad celular

El porcentaje de apoptosis se midió mediante microscopía de fluorescencia con Hoechst 33342 y yoduro de propidio, dos agentes intercalantes de ADN con los que se realizó la tinción de las células. La tinción se preparó a una concentración final de 10 µg/mL para ambos reactivos en medio base de EndoC, incubándolas durante 15 minutos.

En cada condición dos investigadores independientes llevaron a cabo un conteo de al menos 500 células.

Western Blot

Para la identificación de proteínas que participan en la ruta de activación de IFNα se recurrió al *western blot*, técnica que permite marcar proteínas de interés presentes en una mezcla de lisado celular. Se estudió la expresión de la proteína STAT1 fosforilada (p-STAT1, 91 kDa), comparándola con la tubulina (55 kDa) la cual se expresa de forma constitutiva en el modelo estudiado. Estos lisados celulares se obtuvieron con el buffer Laemmli (Tabla 4) después de realizar los tratamientos y se congelaron a -20 °C.

Compuesto	Concentración
Glicerol	2 %
DTT (ApliChem)	20 mM
Tris pH 8.0	12,5 mM
SDS (Panreac)	0,4 % (w/v)
Azul de Bromofenol (Biorad)	0,04 mg/mL
β-mercaptoetanol (Gibco)	2 % (v/v)

Tabla 4. Composición tampón Laemmli

Para cargar las muestras en la electroforesis se descongelaron y se dejaron durante 7 minutos en el termobloque a 98 °C para desnaturalizar las proteínas. Seguidamente, se efectuó una electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE, con gel concentrador de 4 % y gel separador al 10 % según el procedimiento indicado a continuación.

Preparación de geles acrilamida

Los cristales de 1,5 mm de separación se colocaron en el soporte y se comprobó que no tenían fugas y estaban colocados de manera correcta. Se prepararon 20 mL de la mezcla del gel separador, ya que se utilizarían cerca de 8 mL para cada gel. Cada componente de la mezcla y la cantidad añadida se muestra en la tabla siguiente:

Compuesto	Volumen (mL)
30 % Acrilamida/Bis (BioRad)	6,6
1,5 M Tris-HCl pH 8.8	5
10 % SDS	0,2
Agua destilada	8,1
APS	0,1
Temed	0,02

Tabla 5. Composición del gel separador

Tras echar los 8 mL de mezcla en cada cristal se añadió encima una pequeña capa de agua destilada (unos 200 µL) para facilitar la polimerización del gel. El gel había polimerizado transcurridos 20 minutos, momento en el que se retiró el agua y se añadió la mezcla preparada para el gel concentrador (4 % acrilamida), con los componentes y cantidades que se muestran a continuación:

Compuesto	Volumen (mL)
30 % Acrilamida/Bis (BioRad)	0,65
0,5 M Tris-HCl pH 6.8	1,25
10 % SDS	0,05
Agua destilada	3
APS	0,025
Temed	0,025

Tabla 6. Composición del gel concentrador

Se calcularon unos 2,5 mL para cada gel por lo que se prepararon 5 mL de mezcla. En cada cristal se añadió la mezcla hasta llenar el volumen de este y se puso un peine de 15 pocillos. Una vez la mezcla había polimerizado en ambos se reservó hasta realizar la electroforesis.

La electroforesis se realizó con los geles sumergidos en tampón de electroforesis y se programó primero a 90 V durante unos 20 minutos (hasta que el frente llegó al final del gel concentrador) para luego aumentar el voltaje a 110 V hasta llegar al punto deseado (alrededor de 80 - 90 minutos).

Tras la electroforesis, con un método de transferencia húmeda a 90 V durante 90 minutos y sumergidos en tampón de transferencia frío (Tabla 8), se transfirió cada gel a una membrana de transferencia de PVDF (Amersham™, Cytiva) que había sido activada con metanol (CARLO ERBA Reagents).

Compuesto	Concentración
Tris pH 8,6 (Sigma)	2,5 mM
Glicina (Panreac)	19 mM
SDS (Panreac)	0,01 % (w/v)
Agua destilada	-

Tabla 7. Composición tampón de electroforesis

Compuesto	Concentración
Tris	25 mM
Glicina	190 mM
Metanol	20 % (v/v)
Agua destilada	-

Tabla 8. Composición tampón de transferencia

Para bloquear la membrana se preparó una disolución de leche en polvo (Hacendado, Mercadona) en TBS-T (Tabla 11 con una concentración del 5 % (w/v). Se dejó durante 1 hora en agitación a temperatura ambiente y se hizo un lavado rápido con TBS-T para luego incubarla durante toda la noche en una solución del 5% w/v de BSA en TBS-T con los siguientes anticuerpos primarios:

Diana	Especie	Referencia	Dilución
p-STAT1	Conejo	#7649	1:1000
α-Tubulina	Ratón	T5168	1:5000

Tabla 9. Anticuerpos primarios utilizados en Western Blot

Tras esta incubación se realizaron 3 lavados de la membrana de 10 minutos cada uno con TBS-T. Posteriormente se volvió a incubar durante 1 hora con agitación y a temperatura ambiente, con una solución (5 % w/v de leche en TBS-T) con anticuerpos secundarios capaces de unirse al extremo del anticuerpo primario. Estos anticuerpos están conjugados con la peroxidasa de rábano (HRP) en dilución 1:5000.

Diana	Especie	Referencia	Dilución
Conejo	Cabra	#170-6515	1:5000
Ratón	Cabra	#170-6516	1:5000

Tabla 10. Anticuerpos secundarios utilizados en Western Blot

Compuesto	Concentración
NaCl (Sigma)	150 mM
Tris (Sigma)	10 mM
Tween 20 (Sigma)	0,05 % (v/v)
Agua destilada	-

Tabla 11. Composición tampón TBS-T

Para finalmente detectar cada banda de forma específica se añadió el sustrato quimioluminiscente (SuperSignal West Femto, Thermo Scientific[™]) la peroxidasa de rábano y se detectó la señal producida en un transiluminador (Chemi Doc MP, Bio-Rad). El mismo transiluminador también sirvió para tomar las fotografías de las membranas, que fueron editadas para su visualización con el programa Image Lab.

Extracción ARNm, retrotranscripción y qPCR

Con las muestras de ARN se buscaba comprobar la expresión de los genes que estaban siendo activados por la vía de IFN α , cuantificando los niveles de ARNm con RT-qPCR.

A partir de las células utilizadas para el ensayo de viabilidad se recogieron los lisados celulares con buffer RA1 (NucleoSpin RNA, Macherey-Nagel[™]) + 1 % β -mercaptoetanol (Gibco) (100 μ L de buffer de lisis para cada uno). Posteriormente se congelaron las muestras a -80°C para después realizar la extracción del ARN mensajero mediante el kit NucleoSpin RNA:

Protocolo de extracción de ARNm con NucleoSpin RNA kit

Dado que las muestras recogidas habían sido congeladas a -80 °C, se dejan descongelando en hielo mientras se prepara el kit para la extracción. Con las muestras preparadas se procedió de la siguiente manera.

- Se añadieron 100 μ L de etanol 70 % a cada muestra (volumen de etanol en una proporción 1:1). Una vez añadido, se homogeneiza hasta que la muestra deje de ser turbia y quede transparente.
- Cada una de las muestras homogeneizadas se transfiere a una de las columnas para retención de ARN que van incluidas en el kit.

- Las columnas se centrifugaron a 11000 g (Eppendorf Centrifuge 5415 R) durante 30 segundos y se descartó el sobrenadante que queda en el tubo colector de la parte inferior de la columna, poniendo cada uno con su respectiva columna una vez limpios.
- Para la eliminación de sales se añadieron 350 μ L del tampón MDB en cada columna, en el centro de la membrana. Una vez hecho esto se centrifugaron las columnas a 11000 g durante 1 minuto, y de nuevo se descartó el sobrenadante recogido en el tubo inferior.
- Para eliminar el contenido de ADN genómico que haya en las muestras se prepararon 95 μ L de una solución de DNasa (90 % buffer y 10 % DNasa) para cada una. Tras añadirlo a cada una de las columnas, se dejaron durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Cuando transcurrieron los 15 minutos se realizaron tres lavados de las columnas:
- Primero se añadieron 200 μ L del tampón RAW2 y se centrifugaron las columnas durante 1 minuto a 11000 g.
- Después de descartar el sobrenadante del tubo recolector se hizo el segundo lavado, añadiendo 600 μ L del tampón RA3 y se centrifugó a 11000 g durante 1 minuto.
- Un tercer lavado se realizó tras limpiar los tubos recolectores con 250 μ L del mismo tampón RA3 y centrifugando a 11000 g durante 2 minutos.
- Cuando se completaron los lavados se hizo un secado extra repitiendo la misma centrifugación a 11000 g durante 2 minutos, cambiando los tubos recolectores por tubos eppendorf libres de RNAsas.
- Finalmente, para la elución del ARN se añadieron 20 μ L de agua libre de RNAsas en cada una para después centrifugar en cruz a 11000 g durante 2 minutos. Se descartaron las columnas y se congelaron las muestras de ARN purificado a -80 °C para la retrotranscripción.

Seguidamente, se llevó a cabo la retrotranscripción del ARNm a cDNA, mezclando las muestras con los componentes de la reacción en tubos eppendorf de 200 μ L libres de RNAsas (Tabla 13). En un termociclador se realizó la reacción con los siguientes ciclos de temperatura y tiempo:

	Temperatura	Tiempo
Paso 1	25 °C	10 min
Paso 2	37 °C	120 min
Paso 3	85 °C	5 min
Paso 4	4 °C	∞

Tabla 12. Ciclos seguidos en el termociclador

Compuesto	Volumen (μL)
Tampón RT 10X (<i>High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit</i> , Applied Biosystems™)	2
dNTPs 25X (100 mM) (<i>High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit</i> , Applied Biosystems™)	0,8
Hexámeros aleatorios 10X (<i>High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit</i> , Applied Biosystems™)	2
MultiScribe™ RT (<i>High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit</i> , Applied Biosystems™)	1
Inhibidor de RNAsa (Ambion™ RNase Inhibidor, cloned, Applied Biosystems™)	0,5
Muestra (ARNm)	13,7

Tabla 13. Composición de mezcla de RT por muestra

Cuando la retrotranscripción había finalizado, se almacenaron las muestras de cDNA a -20 °C hasta que se utilizaron en la qPCR.

Para realizar la qPCR se preparó en una placa de 96 pocillos (HSP9601, BioRad) con una mezcla comercial (iQ™ SYBR® Green supermix, BioRad) con los elementos necesarios para llevar a cabo la técnica (Tabla 14), a la cual se le añadieron los cebadores específicos de los ARNm que se querían estudiar en cada reacción (Tabla 15) y las muestras correspondientes de ADNc.

Compuesto	Volumen (μL)
iQ™ SYBR® Green supermix 2X	5
H ₂ O libre de RNAsas	3,6
Cebador Forward (100 μM)	0,2
Cebador Reverse (100 μM)	0,2
Muestra (ADNc)	1

Tabla 14. Composición de la mezcla de qPCR por pocillo

Cebador	Secuencia
β-actina <i>Forward</i>	5'-CTGTACGCCAACACAGTGCT-3'
β-actina <i>Reverse</i>	5'-GCTCAGGAGGAGCAATGATC-3'
MX1 <i>Forward</i>	5'-AGACAGGACCATCGGAATCT-3'
MX1 <i>Reverse</i>	5'-GTAACCCTTCTTCAGGTGGAAC-3'
CXCL10 <i>Forward</i>	5'-GTGGCATTCAAGGAGTACCTC-3'

CXCL10 Reverse	5'-GCCTTCGATTCTGGAATTCAG-3'
HLA Forward	5'-GAGAACGGGAAGGAGACGC-3'
HLA Reverse	5'-CATCTCAGGGTGAGGGGCT-3'
CHOP Forward	5'-AACGGAAACAGAGTGGTCATT-3'
CHOP Reverse	5'-GCTTGAGCCGTTTCATTCTCT-3'

Tabla 15. Secuencias de los cebadores de la qPCR

La qPCR se realizó en un termociclador (C1000 Touch™ Thermal Cycler, BioRad) acoplado a un lector de fluorescencia (CFX95™ Real-Time System, BioRad) el cual se programó con los siguientes ciclos:

	Temperatura	Tiempo
Paso 1	95 °C	3 min
Paso 2	95 °C	15 s
Paso 3	60 °C	1 min
Paso 4	Pasos 2 y 3 repetidos 45 veces	
Paso 5	Aumento de 55 °C a 95 °C con intervalos de 0,5 °C cada 5 s.	

Tabla 16. Ciclos de temperatura de la qPCR

Gracias al agente intercalante que contiene la mezcla comercial, se pudo seguir la amplificación del material genético por la emisión de fluorescencia. Una vez terminado el proceso, se recopilaron los datos y fueron analizados.

Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se usó el programa GraphPad Prism 8.0, comparando grupos entre sí mediante two-way ANOVA, considerando los resultados estadísticamente significativos siempre que $p \leq 0,05$. Cada conjunto de datos se muestra como media $\pm$ SEM y cada uno corresponde con un experimento independiente. Además, se incluyeron en gráficos de barras que muestran con símbolos los datos individuales de cada experimento.

Resultados

Zasocitinib protege de la apoptosis inducida por IFN α e IL-1 β en EndoC- β H1

El primer objetivo fue evaluar el efecto del inhibidor sobre la supervivencia de las células. En las células pretratadas durante 1 hora con zasocitinib y expuestas a IFN α e IL-1 β , se observa una disminución de la apoptosis de forma dependiente de la dosis (Figura 7) al compararlo con las células con vehículo tratadas con citoquinas proinflamatorias. En su concentración más baja (10 nM), zasocitinib reduce ~3 % la apoptosis celular, mientras que la concentración más alta (1000 nM) ofrece un efecto protector mayor al reducirla en un ~5 %.

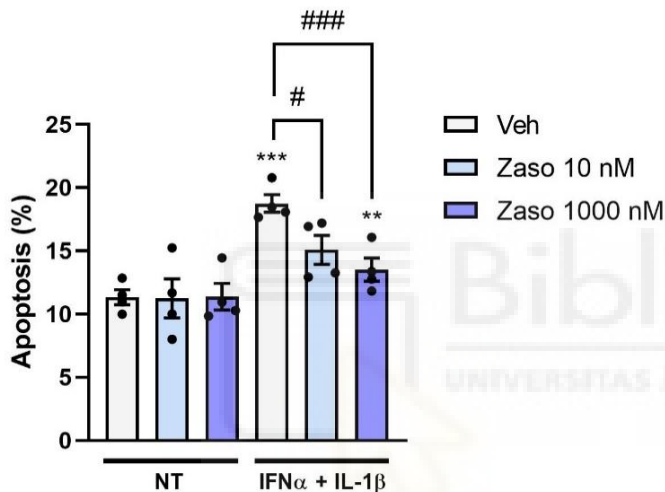


Figura 7. El inhibidor aumenta la supervivencia de las células tratadas con IFN α + IL-1 β en EndoC- β H1. Las células no se trataron (Veh) o se pretrataron con el inhibidor a las concentraciones indicadas (10 o 1000 nM, Zaso [zasocitinib]) durante 1 h. Seguidamente, las células permanecieron sin tratar (NT) o fueron tratadas durante 24 h con las citoquinas IFN α (1000 U/mL) + IL-1 β (50 U/mL) junto con el inhibidor a la misma concentración que en su respectivo pretratamiento. Se calculó el porcentaje de apoptosis celular mediante HO/PI. Los resultados se representan como medias $\pm$ SEM de cuatro experimentos independientes. **p<0,01 y ***p<0,001 vs respectivo NT; #p<0,05 y ###p<0,001 vs Veh IFN α +IL-1 β (Two-way ANOVA)

Zasocitinib inhibe la fosforilación de STAT1 mediada por IFN α en EndoC- β H1

Con el fin de confirmar el efecto de zasocitinib sobre la ruta de señalización inducida por IFN α , se analizaron los niveles de P-STAT1 tanto en células tratadas con IFN α como aquellas sin tratar. La incubación con IFN α induce la fosforilación de STAT1 (Figura 8), efecto que se revierte cuando las células se tratan con el inhibidor, reduciendo los niveles de P-STAT1 con ambas concentraciones. En su concentración más baja (10 nM) la inhibición de la fosforilación es de ~34 %. No obstante, con la concentración más elevada de zasocitinib (1000 nM) se observa el efecto mayor, alcanzando niveles casi nulos de P-STAT1 (Figura 8).

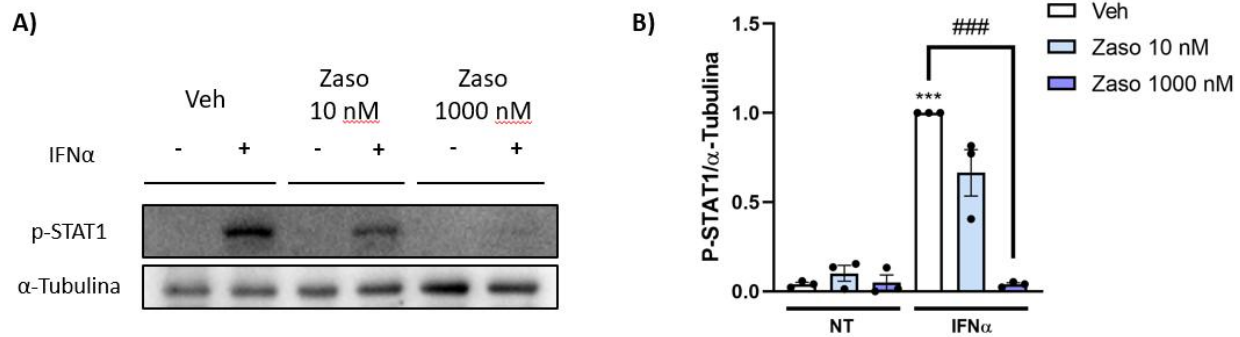


Figura 8. Zasocitinib previene la fosforilación y activación de STAT1 en EndoC- β H1 inducida por IFN α . Las células no se trataron (Veh) o se pretrataron con el inhibidor a las concentraciones indicadas (Zaso [zasocitinib], 10 o 1000 nM) durante 1 h. Seguidamente, las células permanecieron sin tratar (NT) o fueron tratadas durante 1 h con IFN α (1000 U/mL) junto con el inhibidor a la misma concentración que en su respectivo pretratamiento. En (A) se muestran las imágenes representativas de la expresión de proteínas identificada mediante western blot, de 3 experimentos independientes. Además, se cuantificó la fosforilación de STAT1 (B) en cada condición, normalizando por α -Tubulina. También los valores se normalizaron con respecto al vehículo tratado con IFN α , el cual fue tomado como 1. ***p<0,001 vs respectivo NT; ###p<0,001 vs Veh IFN α (Two-way ANOVA).

Zasocitinib previene la sobreexpresión de MX1 y HLA-ABC en EndoC- β H1

Como parte de la respuesta antiviral, la expresión de ISGs es una de las acciones que se dan al final de esta vía de señalización. Se analizó la transcripción del ARNm de *MX1* y *HLA-ABC* para comprobar que zasocitinib era capaz de atenuar la sobreexpresión de estos. En el caso de *MX1* (Figura 9A), se observó que la concentración 10 nM del inhibidor reducía en un ~35 % la expresión, mientras que la concentración más alta lo hacía en un ~90 % (Figura 9A). Respecto a la expresión de *HLA-ABC*, con la concentración mayor de inhibidor se observa una reducción de un ~75 %, estableciendo niveles de expresión ligeramente por encima de las células no tratadas, mientras que la concentración menor causaba una disminución del ~25 % (Figura 9B).

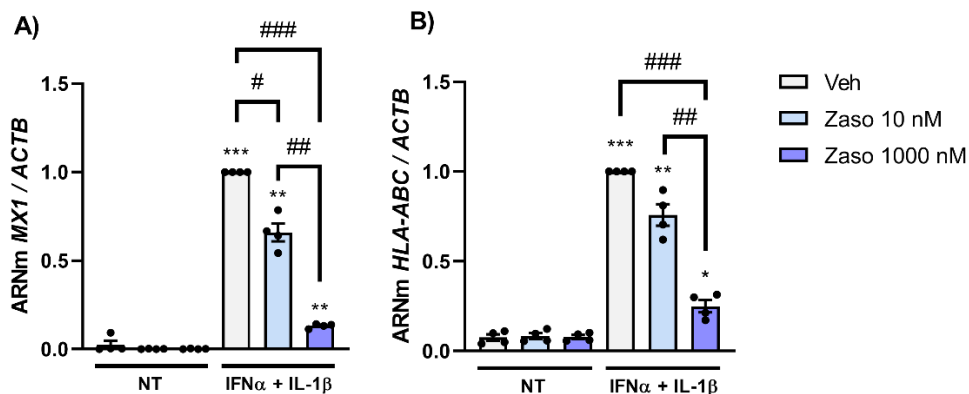


Figura 9. El inhibidor previene la sobreexpresión de MX1 en EndoC-βH1. Las células no se trataron (Veh) o se pretrataron con el inhibidor a las concentraciones indicadas (10 o 1000 nM, Zaso [zasocitinib]) durante 1 h. Seguidamente, las células permanecieron sin tratar (NT) o fueron tratadas durante 24 h con las citoquinas IFNα (1000 U/mL) + IL-1β (50 U/mL) junto con el inhibidor a la misma concentración que en su respectivo pretratamiento. Se midieron los niveles del ARNm de *MX1* (A) y *HLA-ABC* (B) mediante RT-qPCR y se normalizaron por β-actina. Los valores fueron normalizados por el valor de Veh con IFNα+IL-1β, el cual se tomó como 1. Los resultados se representan como medias ± SEM de cuatro experimentos independientes. *p<0,05, **p<0,01 y ***p<0,001 vs respectivo NT; #p<0,05, ##p<0,01 y ###p<0,001 vs Veh IFNα+IL-1β (Two-way ANOVA)

Zasocitinib previene la inflamación en EndoC-βH1

CXCL10 es una quimiocina producida en la diabetes temprana al final de la cascada de señalización de IFNα y como resultado de la inflamación ocasionada. Para comprobar que zasocitinib puede prevenir la inflamación provocada por IFNα, se midieron los niveles de expresión del ARNm de *CXCL10*, obteniendo una inhibición cercana al 85 % con las concentraciones más altas del inhibidor (Figura 10). A pesar de que la concentración más baja de zasocitinib no proyecta un resultado estadísticamente significativo, sí resulta significativo a nivel biológico, ya que se observa una clara tendencia hacia una reducción de un ~30 % con respecto al vehículo tratado con citoquinas. Pese a que el resultado general evidencie el efecto protector en las células, la desviación generada por uno de los valores de uno de los experimentos puede haber causado variaciones en el análisis estadístico.

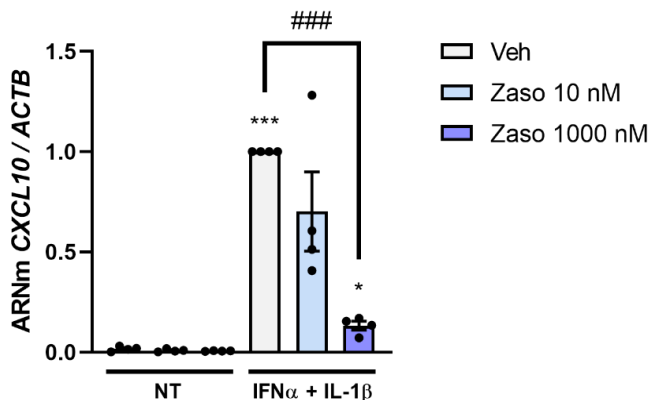


Figura 10. El inhibidor previene la sobreexpresión de CXCL10 en EndoC-βH1. Las células no se trataron (Veh) o se pretrataron con el inhibidor a las concentraciones indicadas (10 o 1000 nM, Zaso [zasocitinib]) durante 1 h. Seguidamente, las células permanecieron sin tratar (NT) o fueron tratadas durante 24 h con las citoquinas IFNα (1000 U/mL) + IL-1β (50 U/mL) junto con el inhibidor a la misma concentración que en su respectivo pretratamiento. Se midieron los niveles del ARNm de CXCL10 mediante RT-qPCR y se normalizaron por β-actina. Los valores fueron normalizados con el valor de Veh con IFNα + IL-1β, el cual se tomó como 1. Los resultados se representan como medias ± SEM de cuatro experimentos independientes. *p<0,05 y *** p<0,001 vs respectivo NT; ###p<0,001 vs Veh IFNα+IL-1β (Two-way ANOVA)

Zasocitinib no previene el estrés de retículo en EndoC-βH1

CHOP es uno de los genes que se analiza como marcador de estrés de retículo, concretamente como parte de la vía de señalización PERK. Para probar un posible efecto protector del inhibidor mediando sobre el estrés de retículo, se midió la expresión de CHOP tras el tratamiento con IFNα e IL-1β y comparado con sus niveles en células sin tratar. Como se puede observar (Figura 11), ninguna de las dos concentraciones de Zasocitinib consigue reducir los niveles de CHOP de forma significativa, por lo que no parece bloquear la sobreexpresión de marcadores de ER stress, inducida por IFNα + IL-1β.

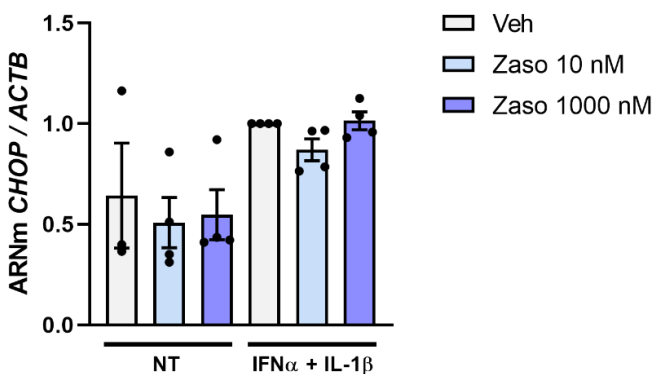


Figura 11. Zasocitinib no previene la sobreexpresión de CHOP en EndoC-βH1 inducida por IFNα + IL-1β. Las células no se trataron (Veh) o se pretrataron con el inhibidor a las concentraciones indicadas (10 o 1000 nM, Zaso [zasocitinib]) durante 1 h. Seguidamente, las células permanecieron sin tratar (NT) o fueron tratadas durante 24 h con las citoquinas IFNα (1000 U/mL) + IL-1β (50 U/mL) junto con el inhibidor a la misma concentración que en su respectivo pretratamiento. Se midió el nivel de ARNm de CHOP como marcador de estrés de retículo endoplásmico mediante RT-qPCR y se normalizaron por β-actina. Los valores fueron normalizados con el valor de Veh tratado con IFNα + IL-1β, el cual se tomó como 1. Los resultados se representan como medias ± SEM de entre tres y cuatro experimentos independientes.

Discusión

El mecanismo de acción por el que actúa zasocitinib es muy similar al de otros inhibidores de la familia *JAKinhibis* probados anteriormente, mediante una inhibición alostérica por la unión al dominio pseudoquinasa JH2 de TYK2 (Mehrotra et al., 2026). Su acción por tanto recae sobre la ruta de señalización de interferones de tipo I, impidiendo la fosforilación de las proteínas STAT. Es por esto que algunos de los resultados obtenidos se comparten con los observados en estudios anteriores (Dos Santos et al., 2023; Works et al., 2014).

En primer lugar, los resultados con el tratamiento de las células durante 24 horas con IFN α e IL-1 β son los esperados. La inhibición de TYK2 con zasocitinib impide la fosforilación de STAT1 (y posiblemente STAT2), reduciendo la expresión de los ISGs y evitando una respuesta inflamatoria exacerbada. Esto se traduce a un efecto protector en las células cuando estas son tratadas con las citoquinas mencionadas, ya que el nivel de apoptosis se reduce siempre que se traten con zasocitinib (Figura 7). No se ha considerado necesario medir los niveles de STAT1 total ya que en este tipo celular y 1 hora de tratamiento no se han demostrado cambios que afecten al nivel de proteína (Dos Santos et al., 2023). Además, no se observa toxicidad inducida por dicho inhibidor, porque la mera presencia de este sin tratar con ningún tipo de señal de inflamación no altera la supervivencia de las células. Finalmente, zasocitinib tampoco produce una inhibición desmesurada que pudiera resultar tóxica o estresante para las células, ya que la concentración más elevada utilizada prácticamente recupera los niveles de supervivencia de los controles sin tratar (Figura 7), indicando que no parece haber ningún efecto inespecífico, más allá de la prevención de una sobreestimulación por IFN-I.

Al comprobar el nivel de STAT1 fosforilada se demuestra que zasocitinib inhibe de forma efectiva TYK2, ya que la presencia del inhibidor reduce los niveles de p-STAT1. Esto evidencia cómo se interrumpe la vía de señalización iniciada por el tratamiento con IFN α , que disminuye drásticamente con las concentraciones más elevadas de zasocitinib, impidiendo respuestas posteriores de genes inducidos por interferón.

Seguidamente, el análisis del ARNm de varios genes cruciales en el desarrollo de la DT1 apoyó la hipótesis del efecto protector de zasocitinib. Al igual que otros inhibidores de la familia *JAKinhibis* como baricitinib, ruxolitinib (de Brachène et al., 2020) o deucravacitinib (Dos Santos et al., 2023; Syed et al., 2025), zasocitinib es capaz de bloquear la sobreexpresión de los genes inducidos por

interferón como se ve con *MX1*, frenando la respuesta antiviral que desencadena la vía de señalización (Figura 9A). En cuanto a la sobreexpresión de HLA, también se observa la misma tendencia que con el resto de inhibidores (Figura 9B), aunque zasocitinib parece tener un efecto menos severo que, por ejemplo, deucravacitinib, a pesar de ser ambos inhibidores del dominio pseudoquinasa de TYK2. Esto podría deberse a sus diferencias estructurales, las cuales definen la afinidad y el potencial de cada uno. La afinidad de estos dos inhibidores por TYK2 es similar y muy elevada, sin embargo, zasocitinib ha demostrado no tener afinidad por JAK1/3 o JAK2, mientras que deucravacitinib sí posee algo de afinidad por estas dianas y podría estar sumándose su actividad off-target a la inhibición normal de TYK2 (Mehrotra et al., 2026). Lo mismo ocurre con las quimiocinas CXCL10 (Figura 10), aunque zasocitinib previene la inflamación inducida por IFN α , el efecto no es tan elevado como el que tiene deucravacitinib, el cual parece funcionar mejor a concentraciones menores (Dos Santos et al., 2023). Este efecto disminuido puede ser beneficioso para modular la vía de señalización de una forma más precisa, ya que permite un mejor control de las concentraciones de inhibidor utilizadas, así como el efecto que estas provocan sobre la célula β . Además, evita una inhibición completa de TYK2, la cual puede acarrear efectos negativos en la respuesta antiviral normal del organismo (de Beeck & Eizirik, 2016). Por ello, la acción de zasocitinib resulta muy notoria y previene la sobreexpresión de ciertos genes que contribuyen a la muerte de la célula β en la respuesta antiviral exacerbada.

Respecto a los marcadores de estrés de retículo, artículos anteriores demostraban que la actividad de ruxolitinib o baricitinib sí disminuía la expresión de varios marcadores de *ER stress* como ATF3 o CHOP (de Brachène et al., 2020, 2018). No obstante, estos resultados no se comparten con zasocitinib, ya que al estudiar el gen *CHOP*, uno de los marcadores clásicos analizados para el estrés de retículo, este mantiene sus niveles elevados en condiciones estresantes sin importar el tratamiento con el inhibidor (Figura 11). Esto es algo que se repite con deucravacitinib (Dos Santos et al., 2023), lo que podría sugerir que el estrés inducido por IFN α se pueda estar dando por vías no clásicas como ya se había teorizado en anteriores ocasiones (Mazewski et al., 2020). Aun así, el presente trabajo no recopila la suficiente información para demostrar los mecanismos causantes de la incapacidad de zasocitinib de ejercer un efecto protector frente al estrés de retículo, por lo que su estudio puede ser de interés para futuras investigaciones.

Conclusiones y proyección futura

La diabetes de tipo 1 supone alrededor de un 10% de los casos de diabetes totales, y se prevé que la cifra de personas con esta enfermedad continúe aumentando en los próximos años. Para mejorar el bienestar de los pacientes, ha surgido la necesidad por tener alternativas a terapias preventivas del desarrollo de DT1 como teplizumab, provocando que se pongan en el centro de atención genes y otras dianas relacionadas con el inicio de la respuesta autoinmune. La vía de señalización de IFN α es una de las principales responsables del proceso de inflamación y pérdida de masa de célula β . Una de terapias preventivas más prometedoras está estrechamente relacionada con la inhibición de esta vía, y se trata de la inhibición de TYK2, una proteína encargada de la transducción de la señal de IFN de tipo I. En este trabajo, se pone a prueba el efecto de zasocitinib como inhibidor específico de TYK2 perteneciente a la familia de los *JAKinhibs* el cual está en fase clínica II en su uso frente otra enfermedad autoinmune como es la psoriasis.

Con relación a los resultados obtenidos es posible concluir que:

- 1- Zasocitinib ejerce un efecto protector sobre la célula β pancreática frente a los estímulos proapoptóticos inducidos por IFN α , aumentando la viabilidad celular y reduciendo la apoptosis asociada a esta citoquina.
- 2- El tratamiento con zasocitinib inhibe eficazmente la vía de señalización clásica de IFN α mediante la reducción de la fosforilación de STAT1, confirmando su capacidad para bloquear la actividad de TYK2.
- 3- Zasocitinib disminuye la expresión de genes estimulados por interferón relacionados con la sobreexpresión de HLA, como *HLA-ABC* y *MX1*, reduciendo así uno de los procesos característicos de las etapas iniciales de la DT1.
- 4- La inhibición de la vía IFN α /TYK2 por zasocitinib atenúa la respuesta inflamatoria inducida por esta citoquina en la célula β pancreática.
- 5- Zasocitinib no modifica de forma significativa los marcadores de estrés de retículo endoplásmico evaluados, lo que indica que este proceso no depende exclusivamente de la señalización mediada por TYK2.

En conjunto, zasocitinib actúa sobre dos de los principales marcadores de la diabetes tipo 1 temprana, la sobreexpresión de HLA y la apoptosis, contribuyendo a la protección de la célula β frente a la agresión inflamatoria.

A pesar de estos efectos beneficiosos, la eficacia observada parece inferior a la descrita para otros inhibidores de TYK2, como deucravacitinib, que muestran un impacto más amplio sobre los marcadores característicos de la diabetes tipo 1 temprana.

Estos resultados sugieren que zasocitinib posee potencial terapéutico para modular mecanismos implicados en las fases iniciales de la DT1, aunque serían necesarios estudios adicionales para determinar su utilidad clínica y comparar directamente su eficacia con la de otros inhibidores de TYK2.

Su uso puede ser interesante en casos donde no se busque una inhibición total de TYK2 o sea necesaria una alternativa al resto de inhibidores. Además, puede ser de gran valor identificar en estudios futuros las razones por las que zasocitinib no afecta al estrés de retículo y tiene efectos reducidos sobre los marcadores, para abrir nuevas ideas sobre la posible complementación con otros fármacos u otros campos que podrían potenciar el retraso del debut de DT1 o incluso revertir el desarrollo y los efectos de la enfermedad.

Bibliografía

- Aamodt, K. I., & Powers, A. C. (2025). The pathophysiology, presentation and classification of Type 1 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 27, 15-27. <https://doi.org/10.1111/dom.16628>
- Akil, A. A.-S., Yassin, E., Al-Maraghi, A., Aliyev, E., Al-Malki, K., & Fakhro, K. A. (2021). Diagnosis and treatment of type 1 diabetes at the dawn of the personalized medicine era. *Journal of Translational Medicine*, 19, 137. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02778-6>
- Aldrich, V. R., Hernandez-Rovira, B. B., Chandwani, A., & Abdulreda, M. H. (2020). NOD Mice—Good Model for T1D but Not Without Limitations. *Cell Transplantation*, 29, 0963689720939127. <https://doi.org/10.1177/0963689720939127>
- Apaolaza, P. S., Balcacean, D., Zapardiel-Gonzalo, J., Nelson, G., Lenchik, N., Akhbari, P., Gerling, I., Richardson, S. J., & Rodriguez-Calvo, T. (2021). Islet expression of type I interferon response sensors is associated with immune infiltration and viral infection in type 1 diabetes. *Science Advances*, 7(9), eabd6527. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd6527>
- Baeyens, L., Hindi, S., Sorenson, R. L., & German, M. S. (2016). β -Cell adaptation in pregnancy. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 18, 63-70. <https://doi.org/10.1111/dom.12716>
- Cnop, M., Hughes, S. J., Igoillo-Esteve, M., Hoppa, M. B., Sayyed, F., van de Laar, L., Gunter, J. H., de Koning, E. J. P., Walls, G. V., Gray, D. W. G., Johnson, P. R. V., Hansen, B. C., Morris, J. F., Pipeleers-Marichal, M., Cnop, I., & Clark, A. (2010). The long lifespan and low turnover of human islet beta cells estimated by mathematical modelling of lipofuscin accumulation. *Diabetologia*, 53(2), 321-330. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1562-x>
- de Beeck, A. O., & Eizirik, D. L. (2016). Viral infections in type 1 diabetes mellitus—Why the β cells? *Nature reviews. Endocrinology*, 12(5), 263-273. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.30>

de Brachène, A. C., Castela, A., de Beeck, A. O., Mirmira, R. G., Marselli, L., Marchetti, P., Masse, C., Miao, W., Leit, S., Evans-Molina, C., & Eizirik, D. L. (2020). Preclinical evaluation of tyrosine kinase 2 inhibitors for human beta-cell protection in type 1 diabetes. *Diabetes, obesity & metabolism*, 22(10), 1827-1836. <https://doi.org/10.1111/dom.14104>

de Brachène, A. C., Dos Santos, R. S., Marroqui, L., Colli, M. L., Marselli, L., Mirmira, R. G., Marchetti, P., & Eizirik, D. L. (2018). IFN α induces a preferential long-lasting expression of MHC class I in human pancreatic beta cells. *Diabetologia*, 61(3), 636-640. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4536-4>

Diabetes Atlas. (2024). Spain. *Diabetes Atlas*. <https://diabetesatlas.org/data-by-location/country/spain/>

DiabetesCERO. (2024, diciembre 11). Un estudio de la Fundación DiabetesCERO revela que la diabetes tipo 1 afecta de manera desigual por comunidades autónomas. *Fundación DiabetesCERO*. <https://diabetescero.org/mas-alla-de-la-insulina-parte-1/>

Dos Santos, R. S., Guzman-Llorens, D., Perez-Serna, A. A., Nadal, A., & Marroqui, L. (2023). Deucravacitinib, a tyrosine kinase 2 pseudokinase inhibitor, protects human EndoC- β H1 β -cells against proinflammatory insults. *Frontiers in Immunology*, 14, 1263926. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1263926>

Eizirik, D. L., Cardozo, A. K., & Cnop, M. (2008). The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocrine Reviews*, 29(1), 42-61. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0015>

Eizirik, D. L., Colli, M. L., & Ortis, F. (2009). The role of inflammation in insulinitis and β -cell loss in type 1 diabetes. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(4), 219-226. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2009.21>

Eizirik, D. L., Moore, F., Flamez, D., & Ortis, F. (2008). Use of a systems biology approach to understand pancreatic beta-cell death in Type 1 diabetes. *Biochemical Society Transactions*, 36(Pt 3), 321-327. <https://doi.org/10.1042/BST0360321>

Eizirik, D. L., Pasquali, L., & Cnop, M. (2020). Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: Different pathways to failure. *Nature Reviews. Endocrinology*, 16(7), 349-362. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0355-7>

Elbuluk, N., Armstrong, A. W., Vender, R., Bhutani, T., Green, L., Ferris, L. K., Laquer, V., Moore, A., Weisman, J., Zhang, W., Winkelman, W., & Gooderham, M. J. (2026). Zasocitinib (TAK-279), a Highly Selective Oral TYK2 Inhibitor, Demonstrates Skin Clearance in Patients with Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis: Post Hoc Analyses of a Randomized Phase IIb Trial. *Dermatology and Therapy*. <https://doi.org/10.1007/s13555-026-01738-6>

Fan, W., Deng, C., Xu, R., Liu, Z., Leslie, R. D., Zhou, Z., & Li, X. (2025). Efficacy and Safety of Automated Insulin Delivery Systems in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diabetes & Metabolism Journal*, 49(2), 235-251. <https://doi.org/10.4093/dmj.2024.0130>

Federación Española de Diabetes. (2026). *Europa aprueba un innovador tratamiento para la DT1*. <https://www.fedesp.es/portal/actualidad/?sec=europa-aprueba-un-innovador-tratamiento-para-la-dt1>

Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>

- Genitsaridi, I., Salpea, P., Salim, A., Sajjadi, S. F., Tomic, D., James, S., Thirunavukkarasu, S., Issaka, A., Chen, L., Basit, A., Luk, A. O. Y., Ma, R. C. W., Mbanya, J.-C., Ramachandran, A., Wild, S. H., Duncan, B. B., Boyko, E. J., & Magliano, D. J. (2026). 11th edition of the IDF Diabetes Atlas: Global, regional, and national diabetes prevalence estimates for 2024 and projections for 2050. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 14(2), 149-156. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(25\)00299-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(25)00299-2)
- George, S., Deshpande, G. R., & Sapkal, G. N. (2020). Interferons and Their Role in Viral Infection. En P. V. Bramhachari (Ed.), *Dynamics of Immune Activation in Viral Diseases* (pp. 61-80). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1045-8_4
- Gregory, G. A., Robinson, T. I. G., Linklater, S. E., Wang, F., Colagiuri, S., de Beaufort, C., Donaghue, K. C., Harding, J. L., Wander, P. L., Zhang, X., Li, X., Karuranga, S., Chen, H., Sun, H., Xie, Y., Oram, R., Magliano, D. J., Zhou, Z., Jenkins, A. J., ... Ogle, G. D. (2022). Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: A modelling study. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 10(10), 741-760. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00218-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00218-2)
- Guzman-Llorens, D., Dos Santos, R. S., & Marroquí, L. (2026, abril 13). Bloqueo de los interferones: ¿podría ser una buena estrategia para la prevención de la diabetes tipo 1? *Revista Diabetes*. <https://www.revistadiabetes.org/wp-content/uploads/Bloqueo-de-los-interferones-¿podria-ser-una-buena-estrategia-para-l.pdf>
- Herold, K. C., Bundy, B. N., Long, S. A., Bluestone, J. A., DiMeglio, L. A., Dufort, M. J., Gitelman, S. E., Gottlieb, P. A., Krischer, J. P., Linsley, P. S., Marks, J. B., Moore, W., Moran, A., Rodriguez, H., Russell, W. E., Schatz, D., Skyler, J. S., Tsalikian, E., Wherrett, D. K., ... Greenbaum, C. J. (2019). An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *The New England journal of medicine*, 381(7), 603-613. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1902226>
- Hodik, M., Anagandula, M., Fuxe, J., Krogvold, L., Dahl-Jørgensen, K., Hyöty, H., Sarmiento, L., & G Frisk. (2016). Cocksackie-adenovirus receptor expression is enhanced in pancreas from patients with type 1 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 4(1). <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000219>
- Hu, Q., Bian, Q., Rong, D., Wang, L., Song, J., Huang, H.-S., Zeng, J., Mei, J., & Wang, P.-Y. (2023). JAK/STAT pathway: Extracellular signals, diseases, immunity, and therapeutic regimens. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1110765. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1110765>
- Hu, X., Li, J., Fu, M., Zhao, X., & Wang, W. (2021). The JAK/STAT signaling pathway: From bench to clinic. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 402. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00791-1>
- Insel, R. A., Dunne, J. L., Atkinson, M. A., Chiang, J. L., Dabelea, D., Gottlieb, P. A., Greenbaum, C. J., Herold, K. C., Krischer, J. P., Lernmark, Å., Ratner, R. E., Rewers, M. J., Schatz, D. A., Skyler, J. S., Sosenko, J. M., & Ziegler, A.-G. (2015). Staging Presymptomatic Type 1 Diabetes: A Scientific Statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 38(10), 1964-1974. <https://doi.org/10.2337/dc15-1419>
- International Diabetes Federation. (2025). International Diabetes Federation. <https://idf.org/>
- Katsarou, A., Gudbjörnsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>

- Kawasaki, E. (2023). Anti-Islet Autoantibodies in Type 1 Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 10012. <https://doi.org/10.3390/ijms241210012>
- Kumar, H., Kumari, R., Maurya, V. K., Amar, S. K., Ansari, P., Seidel, V., Harper, J., Kothari, A., Misra, A., & Kumar, S. (2026). Endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus: A comprehensive review of emerging insights and recent progress. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 20(5), 103420. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2026.103420>
- Lal, R. A., Ekhlaspour, L., Hood, K., & Buckingham, B. (2019). Realizing a Closed-Loop (Artificial Pancreas) System for the Treatment of Type 1 Diabetes. *Endocrine Reviews*, 40(6), 1521-1546. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00174>
- Marroqui, L., Dos Santos, R. S., Fløyel, T., Grieco, F. A., Santin, I., Op de Beeck, A., Marselli, L., Marchetti, P., Pociot, F., & Eizirik, D. L. (2015). TYK2, a Candidate Gene for Type 1 Diabetes, Modulates Apoptosis and the Innate Immune Response in Human Pancreatic β -Cells. *Diabetes*, 64(11), 3808-3817. <https://doi.org/10.2337/db15-0362>
- Marroqui, L., Dos Santos, R. S., Op De Beeck, A., Coomans De Brachène, A., Marselli, L., Marchetti, P., & Eizirik, D. L. (2017). Interferon- α mediates human beta cell HLA class I overexpression, endoplasmic reticulum stress and apoptosis, three hallmarks of early human type 1 diabetes. *Diabetologia*, 60(4), 656-667. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4201-3>
- Marroquí, L., Perez-Serna, A. A., Babiloni-Chust, I., & Dos Santos, R. S. (2021). Type I interferons as key players in pancreatic β -cell dysfunction in type 1 diabetes. En *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 359, pp. 1-80). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2021.02.011>
- Mazewski, C., Perez, R. E., Fish, E. N., & Plataniias, L. C. (2020). Type I Interferon (IFN)-Regulated Activation of Canonical and Non-Canonical Signaling Pathways. *Frontiers in Immunology*, 11, 606456. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.606456>
- Mehrotra, S., Sano, Y., Halkowycz, P., Wilson, E., Durairaj, C., Kong, K.-F., Xia, G., Dunbar, F., Spector, T., Heap, G. A., Bunick, C. G., & McInnes, I. B. (2026). Pharmacological Characterization of Zasocitinib (TAK-279): An Oral, Highly Selective, and Potent Allosteric TYK2 Inhibitor. *Journal of Investigative Dermatology*, 146(1), 214-222.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2025.05.014>
- Mori, T., Zaharia, O. P., Straßburger, K., Dennis, J. M., Mai, K., Kabisch, S., Bornstein, S., Szendroedi, J., Blüher, M., Meyhöfer, S., Seissler, J., Birkenfeld, A., Stefan, N., Roden, M., Wagner, R., Kuß, O., Al-Hasani, H., Belgardt, B. F., Bönhof, G. J., ... and the GDS Group. (2025). Recognising, quantifying and accounting for classification uncertainty in type 2 diabetes subtypes. *Diabetologia*, 68(10), 2139-2150. <https://doi.org/10.1007/s00125-025-06486-4>
- Ogle, G. D., Wang, F., Haynes, A., Gregory, G. A., King, T. W., Deng, K., Dabelea, D., James, S., Jenkins, A. J., Li, X., Ma, R. C. W., Maahs, D. M., Oram, R. A., Pihoker, C., Svensson, J., Zhou, Z., Magliano, D. J., & Maniam, J. (2025). Global type 1 diabetes prevalence, incidence, and mortality estimates 2025: Results from the International diabetes Federation Atlas, 11th Edition, and the T1D Index Version 3.0. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 225, 112277. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2025.112277>

- Onengut-Gumuscu, S., Concannon, P., Akolkar, B., Erlich, H. A., Julier, C., Morahan, G., Nierras, C. R., Pociot, F., Todd, J. A., & Rich, S. S. (2025). Type 1 Diabetes Genetics Consortium. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 110(6), 1505-1513. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaf181>
- Platanias, L. C. (2005). Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nature Reviews Immunology*, 5(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/nri1604>
- Raftery, N., & Stevenson, N. J. (2017). Advances in anti-viral immune defence: Revealing the importance of the IFN JAK/STAT pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(14), 2525-2535. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2520-2>
- Ravassard, P., Hazhouz, Y., Pechberty, S., Bricout-Neveu, E., Armanet, M., Czernichow, P., & Scharfmann, R. (2011). A genetically engineered human pancreatic β cell line exhibiting glucose-inducible insulin secretion. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(9), 3589-3597. <https://doi.org/10.1172/JCI58447>
- Reichman, T. W., Markmann, J. F., Odorico, J., Witkowski, P., Fung, J. J., Wijkstrom, M., Kandeel, F., Koning, E. J. P. de, Peters, A. L., Mathieu, C., Kean, L. S., Bruinsma, B. G., Wang, C., Mascia, M., Sanna, B., Marigowda, G., Pagliuca, F., Melton, D., Ricordi, C., & Rickels, M. R. (2025). Stem Cell-Derived, Fully Differentiated Islets for Type 1 Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 393(9), 858-868. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2506549>
- Richardson, S. J., Rodriguez-Calvo, T., Gerling, I. C., Mathews, C. E., Kaddis, J. S., Russell, M. A., Zeissler, M., Leete, P., Krogvold, L., Dahl-Jørgensen, K., von Herrath, M., Pugliese, A., Atkinson, M. A., & Morgan, N. G. (2016). Islet cell hyperexpression of HLA class I antigens: A defining feature in type 1 diabetes. *Diabetologia*, 59(11), 2448-2458. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4067-4>
- Richardson, S. J., Willcox, A., Bone, A. J., Foulis, A. K., & Morgan, N. G. (2009). The prevalence of enteroviral capsid protein vp1 immunostaining in pancreatic islets in human type 1 diabetes. *Diabetologia*, 52(6), 1143-1151. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1276-0>
- Santin, I., & Eizirik, D. L. (2013). Candidate genes for type 1 diabetes modulate pancreatic islet inflammation and β -cell apoptosis. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 15(s3), 71-81. <https://doi.org/10.1111/dom.12162>
- Semerano, L., Minichiello, E., Bessis, N., & Boissier, M.-C. (2016). Novel Immunotherapeutic Avenues for Rheumatoid Arthritis. *Trends in Molecular Medicine*, 22(3), 214-229. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.01.005>
- Sociedad Española de Diabetes. (s. f.). *Sociedad Española de Diabetes | SED*. Recuperado 16 de junio de 2026, de <https://www.sediabetes.org/>
- Srivastava, N., Vomund, A. N., Yu, R., Peterson, O. J., Yang, Y., Turicek, D. P., Abousaway, O., Li, T., Kain, L., Stone, P., Ansar, A., Clement, C. C., Sharma, S., Melhem, R., Zhang, B., Liu, C., Joglekar, A. V., Hu, H., Hsieh, C.-S., ... Wan, X. (2026). A microenvironment-driven HLA-II-associated insulin neoantigen elicits persistent memory T cell activation in diabetes. *Nature Immunology*, 27(1), 82-97. <https://doi.org/10.1038/s41590-025-02343-z>
- Størling, J., & Pociot, F. (2017). Type 1 Diabetes Candidate Genes Linked to Pancreatic Islet Cell Inflammation and Beta-Cell Apoptosis. *Genes*, 8(2), 72. <https://doi.org/10.3390/genes8020072>
- Strober, B., Thaçi, D., Sofen, H., Kircik, L., Gordon, K. B., Foley, P., Rich, P., Paul, C., Bagel, J., Colston, E., Throup, J., Kundu, S., Sekaran, C., Linaberry, M., Banerjee, S., & Papp, K. A. (2023). Deucravacitinib

versus placebo and apremilast in moderate to severe plaque psoriasis: Efficacy and safety results from the 52-week, randomized, double-blinded, phase 3 Program fOr Evaluation of TYK2 inhibitor psoriasis second trial. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 88(1), 40-51. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2022.08.061>

Swiecki, M., & Colonna, M. (2011). Type I interferons: Diversity of sources, production pathways and effects on immune responses. *Current opinion in virology*, 1(6), 463-475. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.026>

Syed, F., Ballew, O., Lee, C.-C., Rana, J., Krishnan, P., Castela, A., Weaver, S. A., Chalasani, N. S., Thomaidou, S. F., Demine, S., Chang, G., Coomans de Brachène, A., Alvelos, M. I., Vazquez, E. M., Marselli, L., Orr, K., Felton, J. L., Liu, J., Kaddis, J. S., ... Evans-Molina, C. (2025). Pharmacological inhibition of tyrosine protein-kinase 2 reduces islet inflammation and delays type 1 diabetes onset in mice. *eBioMedicine*, 117, 105734. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2025.105734>

Thakkar, S., Chopra, A., Nagendra, L., Kalra, S., & Bhattacharya, S. (2023). Teplizumab in Type 1 Diabetes Mellitus: An Updated Review. *touchREVIEWS in Endocrinology*, 19(2), 22-30. <https://doi.org/10.17925/EE.2023.19.2.7>

Van Belle, T. L., Coppieters, K. T., & Von Herrath, M. G. (2011). Type 1 Diabetes: Etiology, Immunology, and Therapeutic Strategies. *Physiological Reviews*, 91(1), 79-118. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2010>

Waibel, M., Wentworth, J. M., So, M., Couper, J. J., Cameron, F. J., MacIsaac, R. J., Atlas, G., Gorelik, A., Litwak, S., Sanz-Villanueva, L., Trivedi, P., Ahmed, S., Martin, F. J., Doyle, M. E., Harbison, J. E., Hall, C., Krishnamurthy, B., Colman, P. G., Harrison, L. C., ... BANDIT Study Group. (2023). Baricitinib and β -Cell Function in Patients with New-Onset Type 1 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 389(23), 2140-2150. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2306691>

Works, M. G., Yin, F., Yin, C. C., Yiu, Y., Shew, K., Tran, T.-T., Dunlap, N., Lam, J., Mitchell, T., Reader, J., Stein, P. L., & D'Andrea, A. (2014). Inhibition of TYK2 and JAK1 Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis by Inhibiting IL-22 and the IL-23/IL-17 axis. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 193(7), 3278-3287. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400205>

Xin, P., Xu, X., Deng, C., Liu, S., Wang, Y., Zhou, X., Ma, H., Wei, D., & Sun, S. (2020). The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases. *International Immunopharmacology*, 80, 106210. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106210>

Zhou, M., Shen, Q., & Li, B. (2025). JAK inhibitors: A new choice for diabetes mellitus? *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 17(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s13098-025-01582-2>

Ziegler, A.-G., Cengiz, E., & Kay, T. W. H. (2025). The future of type 1 diabetes therapy. *The Lancet*, 406(10511), 1520-1534. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(25\)01438-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(25)01438-2)

Антонцева, Е. В., Дегтярева, А. О., Корболина, Е. Е., Дамаров, И. С., & Меркулова, Т. И. (2023). Однонуклеотидные замены в геноме человека, влияющие на связывание факторов транскрипции, и их роль в развитии патологий. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 27(6), 662-675. <https://doi.org/10.18699/VJGB-23-77>