



## PR-002 - DISRUPCIÓN DEL RITMO CIRCADIANO EN LEUCOCITOS DE PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON LAS INTERACCIONES LEUCOCITO-ENDOTELIO

S. Rovira Llopis<sup>a,b</sup>, C. Luna Marco<sup>b</sup>, J. Cacace<sup>a</sup>, O.A. Hernández-López<sup>a</sup>, A. Hermo-Argibay<sup>a</sup>, C. Morillas<sup>a</sup> y V.M. Víctor<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Doctor Peset-Fisabio, Valencia, España. <sup>b</sup>Departamento de Fisiología, Universitat de València, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España. <sup>c</sup>CIBERehd, Departamento Farmacología, Universitat de València, España.

### Resumen

**Introducción y objetivos:** Las alteraciones de los ritmos circadianos aumentan el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (DM2) y enfermedades cardiovasculares. Los ritmos circadianos están controlados por varios genes reloj que se expresan en las células inmunitarias, entre otras. Los leucocitos son clave en la fisiopatología de la DM2 y participan en el proceso aterosclerótico que subyace al riesgo cardiovascular en estos pacientes. El objetivo fue evaluar si el sistema de reloj molecular está alterado en los leucocitos de pacientes con DM2 y explorar el mecanismo por el cual esta alteración podría conducir a un mayor riesgo cardiovascular en esta población.

**Material y métodos:** Estudio observacional transversal en 25 participantes con DM2 y 28 sanos, reclutados desde la Unidad de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario Dr. Peset (Valencia). Se obtuvieron parámetros clínicos y bioquímicos, y se aislaron leucocitos de sangre periférica. Se evaluó el reloj molecular a nivel de expresión génica (ARNm) y proteica mediante RT-PCR y *western blot*, respectivamente. Los niveles de marcadores inflamatorios se evaluaron con Luminex XMAP. Se realizaron ensayos de interacción leucocito-endotelio con leucocitos de los participantes o células THP-1 (con/sin CLK8) y células HUVEC en un sistema de adhesión dinámica.

**Resultados:** Los participantes con DM2 mostraron un aumento de los niveles de ARNm de BMAL1 y NR1D1 y una disminución de los niveles de proteína de CLOCK, CRY1, p-BMAL1 y PER2. Las correlaciones revelaron que estas alteraciones en las proteínas del reloj se asociaban negativamente con los niveles de glucosa, HbA<sub>1c</sub>, insulina y HOMA-IR y con el recuento de células leucocitarias. La velocidad de rodamiento de los leucocitos se redujo y el flujo de rodamiento y la adhesión aumentaron en individuos con DM2 en comparación con los participantes sanos. La inhibición de la actividad CLOCK/BMAL1 en los leucocitos mediante el inhibidor específico CLK8 imitó los efectos de la DM2 en las interacciones leucocito-endotelio.

**Conclusiones:** El reloj molecular se encuentra alterado en leucocitos de individuos con DM2, tanto a nivel de ARNm como de proteína. Estas alteraciones se asociaron con el deterioro del perfil metabólico y proinflamatorio característico de la DM2. Además, el aumento de las interacciones leucocito-endotelio, consecuencia de la disminución de la actividad CLOCK/BMAL1, sugiere que las disrupciones en el reloj molecular aceleran el proceso inflamatorio y, en última instancia, contribuyen al riesgo cardiovascular en pacientes con DM2.

Agradecimientos: Estudio realizado con fondos de la Ayuda SED a Proyectos de Investigación Básica en Diabetes dirigidos por Jóvenes Investigadores 2023, de FEDER (European Regional Development Fund, ERDF ‘‘A way to build Europe’’), HORIZON EUROPE EU Programme HORUS - Ref.101136516, del Instituto de Investigación Sanitaria Carlos III (ISCIII): PI22/00424, CP24/00098, FIS23/00070, de la Generalitat Valenciana, Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital (CIPROM/2022/32, CIGRIS/2022/172).