

PÓSTERES

XXXIV Congreso de la Sociedad Española de Diabetes

Valencia, 19-21 de abril de 2023

COMPLICACIONES DE LA DIABETES

P-001. LAS NANOPARTÍCULAS DE ORO Y CERIO MODULAN LAS INTERACCIONES LEUCOCITO-ENDOTELIO Y LA INFLAMACIÓN EN LA DIABETES TIPO 2

P. Díaz-Pozo^a, C. Luna-Marco^a, L. Perea-Galera^a, A. Hermo-Argibay^a, M. Rocha^a, S. Rovira-Llopis^{a,b} y V.M. Víctor^{a,b}

^aUnidad de Investigación de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Doctor Peset-FISABIO, Valencia, España.

^bDepartamento de Fisiología-Universidad de Valencia, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España.

Introducción: La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad metabólica acompañada de un estado inflamatorio crónico y asociada a niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las nanopartículas de oro y cerio (NPs Au/CeO₂) tienen propiedades antioxidantes con capacidad de modular el estrés oxidativo. Sin embargo, se desconoce si estas nanopartículas pueden aportar beneficios antioxidantes y antiinflamatorios en la DM2 y modular las interacciones leucocito-endotelio, acción que representa el primer paso en el proceso aterosclerótico.

Objetivos: En este estudio prospectivo y observacional se pretende estudiar los efectos de las NPs Au/CeO₂ sobre las interacciones leucocito-endotelio y el estrés oxidativo y la inflamación en pacientes con DM2.

Material y métodos: Se reclutaron 57 pacientes con DM2 y 51 sujetos sanos (ajustados por género y edad) y se determinaron los parámetros antropométricos de peso, índice de masa corporal (IMC), y perímetro abdominal. La toxicidad de las NPs Au/CeO₂ se estudió mediante ensayos de proliferación celular y viabilidad (tinción de naranja de acridina y yoduro de propidio) y apoptosis (FITC Anexina V), con células U937. A partir de muestras de sangre, se realizó un análisis bioquímico y se extrajeron los leucocitos polimorfonucleares (PMNs). Se evaluaron las interacciones leucocito-endotelio mediante ensayos de adhesión dinámica y estática sobre una línea de células endoteliales HUVEC previamente tratadas con NPs de diferentes grados de pureza del oro (10; 4,4; 1,79; y 0,82%). Se evaluó la producción de ROS por microscopía de fluorescencia empleando el fluorocromo DCFH-DA en PMNs tratados con NPs Au/CeO₂. Se analizó la expresión de NF-κB (p65) mediante western blot en células HUVEC

pre-incubadas con NPs Au/CeO₂ en cocultivo con PMNs procedentes de pacientes con DM2 y sus respectivos controles.

Resultados: Los pacientes con DM2 presentaban mayor IMC y alteraciones características de la diabetes, hiperglucemia y dislipide-mia. Los ensayos de proliferación celular, viabilidad y apoptosis demostraron que las NPs Au/CeO₂ no producían toxicidad. Hubo un aumento en las interacciones leucocito-endotelio en los PMNs de DM2 respecto a los controles. Sin embargo, el tratamiento con Au/CeO₂ al 0,82% incrementó la velocidad de rodamiento de los leucocitos y disminuyó el flujo de rodamiento y la adhesión en los leucocitos de pacientes con DM2. La producción de ROS y los niveles de NF-κB se vieron aumentados en el grupo de DM2 y disminuyeron con Au/CeO₂ al 0,82%. El resto de NPs con diferentes grados de pureza de Au no mostraron efectos beneficiosos.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que las NPs Au/CeO₂, al 0,82% modulan las interacciones leucocito-endotelio y ejercen acciones antioxidantes y antiinflamatorias en leucocitos de pacientes con DM2, sugiriendo un papel protector frente a la aparición de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares.

Agradecimientos: PI22/0424, PI22/1009, PROMETEO/2019/027, ZA21-049, ACIF/2020/370, European Regional Development Fund (ERDF “A way to build Europe”).

P-002. LA SUPERPRODUCCIÓN DEL FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA HIF-2 AFECTA A LA FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS BETA PANCREÁTICAS

D. Cano González^a, A. Barroso Romero^a, Á. Flores Martínez^a, A. Calderón Villalba^a y A.I. Rojas González^b

^aInstituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

^bCentro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa-CABIMER, Universidad Pablo de Olavide, Universidad de Sevilla, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Sevilla, España.

Introducción y objetivos: Los factores de transcripción HIF (*hypoxia inducible factor*) son los principales efectores de la respuesta a la hipoxia a nivel celular activando genes implicados en una variedad de funciones biológicas. Se han identificado tres tipos de subunidades alfa de HIF, HIF-1 α , HIF-2 α y HIF-3 α , siendo HIF1 α y HIF2 α las más estudiadas. Se ha descrito que HIF2 α se activa en células

beta pancreáticas durante la diabetes, lo que sugiere un papel causal de este factor en la progresión de la diabetes. Nuestro objetivo es evaluar directamente esta hipótesis activando HIF2 α en células beta mediante métodos genéticos en ratones.

Material y métodos: Hemos activado específicamente HIF2 α en células beta en ratones mediante la tecnología *Cre/Lox* (ratones *Ins-Cre;HIF2dPA*). Hemos analizado las células beta de estos ratones mediante técnicas de histología, inmunohistoquímica y biología molecular.

Resultados: Los ratones *Ins-Cre;HIF2dPA* adultos desarrollan una clara intolerancia a glucosa que es causada por un defecto en la secreción de insulina en respuesta a glucosa. Los islotes de Langerhans de estos ratones no muestran anomalías morfológicas aparentes, pero el área total de células beta está disminuida. Mediante análisis de *microarrays* hemos podido determinar que la sobreactivación de HIF2 α causa cambios en la expresión de genes implicados en glucólisis, vascularización, así como varias rutas de señalización importantes en la función de las células beta. Sorprendentemente, las células beta de los ratones *Ins-Cre;HIF2dPA* expresan marcadores característicos de células pancreáticas inmaduras.

Conclusiones: La sobreactivación de HIF-2 α afecta negativamente a la función de la célula beta impidiendo una respuesta adecuada a las concentraciones elevadas de glucosa.

Este estudio ha sido financiado con un proyecto del Programa Estatal de I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-120095RB-I00/AEI/10,13039/501100011033).

P-003. ALTERACIÓN DEL ESTADO REDOX Y BIOENERGÉTICO DE LEUCOCITOS DE PACIENTES CON DIABETES TIPO 1 Y SU IMPLICACIÓN EN EL RIESGO CARDIOVASCULAR

C. Luna-Marco^a, F. Canet^a, L. Perea-Galera^a, A. Hermo-Argibay^a, M. Rocha^a, S. Rovira-Llopis^{a,b} y V.M. Víctor^{a,b}

^aUnidad de Investigación de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Doctor Peset-FISABIO, Valencia, España.

^bDepartamento de Fisiología-Universidad de Valencia, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España.

Introducción: La diabetes tipo 1 (DM1) implica alteraciones metabólicas críticas que contribuyen a un mayor riesgo cardiovascular. Los leucocitos participan en la aparición de la aterosclerosis debida en parte a su activación e interacción con el endotelio. Sin embargo, se desconoce si las alteraciones en el estado redox y la bioenergética mitocondrial de los leucocitos participan en la fisiopatología de la DM1.

Objetivos: Evaluar el estado redox, el consumo de oxígeno y las interacciones leucocito-endotelio a partir de leucocitos de pacientes con DM1 en comparación con leucocitos de sujetos sanos.

Material y métodos: Se reclutaron 44 pacientes con DM1 y 52 sujetos control, ajustados por edad y sexo. Se registraron las medidas antropométricas y se extrajeron muestras de sangre para determinar parámetros bioquímicos y antioxidantes, y para aislar leucocitos polimorfonucleares (PMNs) y mononucleares (PBMCs). El estrés oxidativo se evaluó mediante citometría de flujo, empleando las sondas fluorescentes para la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) totales (DCFH-DA) y de radical superóxido (HE). Con la tecnología Seahorse, se midieron los parámetros bioenergéticos de respiración basal, respiración ligada a la producción de ATP, capacidad respiratoria de reserva, respiración máxima y respiración no mitocondrial en PBMCs. Por último, la interacción leucocito-endotelio se observó *in vitro* mediante un sistema de adhesión dinámico con cámara paralela de flujo empleando PMNs de los pacientes y una línea de cultivo de células endoteliales.

Resultados: No hubo diferencias entre los grupos en peso, circunferencia de cintura, índice de masa corporal o presión sanguínea, y

como era esperado, sí difirieron los niveles de glucosa en ayunas y hemoglobina glicosilada, más elevados en los pacientes con DM1. Respecto al grupo control, los pacientes con DM1 presentaron niveles reducidos de antioxidantes de acción rápida y antioxidantes totales. Los leucocitos de los pacientes con DM1 presentaron mayores niveles de ROS totales y de superóxido que los de controles. La respiración basal y ligada a la producción de ATP fue similar, pero los leucocitos de pacientes con DM1 exhibieron una capacidad respiratoria de reserva significativamente menor a los controles. Se observó también una ligera reducción en la respiración máxima y no mitocondrial en los pacientes con DM1. En cuanto a la interacción leucocito-endotelio, los leucocitos de pacientes con DM1 presentaron menor velocidad de rodamiento, flujo de rodamiento aumentado y mayor adhesión al endotelio, en comparación con los controles.

Conclusiones: Nuestros hallazgos muestran que en pacientes con DM1 hay un incremento del estrés oxidativo y alteraciones en el consumo de oxígeno de los leucocitos. Estos mecanismos, junto con el aumento de las interacciones leucocito-endotelio, podrían contribuir a un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares en pacientes con DM1.

Agradecimientos: PI22/0424, PI22/1009, PROMETEO/2019/027, ZA21-049, GRISOLIAP/2019/091, European Regional Development Fund (ERDF "A way to build Europe").

P-004. EFECTO DEL CONTROL METABÓLICO SOBRE LA GRASA EPICÁRDICA Y LA FUNCIÓN DE LAS HDL EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2

P. Gil^{a,b}, J. Rives Jiménez^b, I. Genua Trullos^c, I. Miñambres^c, M. Grau^b, N. Farré^b, J. Sánchez Quesada^b y A. Pérez Pérez^{b,c}

^aHospital Moisés Broggi, Barcelona, España. ^bBiomedical Research Institute IIB Sant Pau, Barcelona, España. ^cServicio de endocrinología y nutrición, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España.

Introducción: El tejido adiposo epicárdico (TAE) es un depósito metabólicamente activo que se ha implicado en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la arteriosclerosis. Sin embargo, los mecanismos implicados no están bien establecidos.

Objetivos: Determinar el efecto del control metabólico sobre el volumen TAE y la función de las HDL en pacientes DM2.

Material y métodos: Estudio descriptivo, observacional, longitudinal con 36 pacientes (edad, sexo) con DM2 al debut (HbA1c, IMC) y al año de la optimización del control (HbA1c, IMC), y 14 controles sanos (edad, sexo). Determinamos el perfil lipídico, apolipoproteínas y tamaño de LDL. Se analizó la composición y funcionalidad de las HDL, incluyendo potencial antiinflamatorio (sobre cultivos de cardiomiocitos) y potencial antioxidante sobre la oxidación de LDL. El TAE se valoró por tomografía computarizada. Se compararon las medias y las correlaciones entre parámetros mediante test no paramétricos. Se fijo como coeficiente estadístico $p < 0,05$.

Resultados: En la tabla se muestra el perfil lipídico de los pacientes con DM2 antes y tras la optimización del control, y en controles sanos. La optimización del control metabólico incrementó la capacidad antioxidante de la HDL en la prevención de la oxidación de la LDL (inhibición de la oxidación $13,7 \pm 15,88$ vs. $26,95 \pm 17,28$ % $p < 0,003$). Igualmente, la optimización del control metabólico incrementó la capacidad antiinflamatoria de HDL previniendo la liberación de IL6 de los cardiomiocitos en cultivo (inhibición de la producción de IL6 $24,23 \pm 23,93$ vs. $43,87 \pm 26,32$ % $p < 0,011$). Estos cambios en la funcionalidad podrían estar relacionados con cambios de composición de la HDL, incluyendo mayor contenido en apoA-I ($37,46 \pm 2,3$ vs. $38,54 \pm 2,33$ %, $p < 0,007$), PAF-AH ($40,79 \pm 11,80$ vs. $47,36 \pm 15,87$ %, $p < 0,032$), y disminución de apoC-III ($2,40 \pm 0,96$ vs. $1,97 \pm 0,78$ %, $p < 0,003$) y apoE ($0,49 \pm 0,34$ vs. $0,38 \pm 0,23$, $p < 0,002$), tras la mejora del control glicémico.

Tabla P-004

	Pacientes DM2, basal 12 meses		Controles
cT (mg/dL)	189,84 (\pm 37,61)	180,9 (\pm 47,92)	194,6 (\pm 39,83)
Tg (mg/dL)	155,9 (\pm 68,65)	163,02 (\pm 121,08)	83,95 (\pm 45,83)**
cHDL (mg/dL)	40,08 (\pm 9,37)	45,03 (\pm 8,47)*	54,45 (\pm 12,30)**
cLDL (mg/dL)	119,8 (\pm 31,64)	105,55 (\pm 0,37,82)	123,01 (\pm 33,04)
cVLDL (mg/dL)	30,12 (\pm 13,03)	28,95 (\pm 17,23)	16,91 (\pm 9,23)**
ApoB (g/L)	4,06 (\pm 17,99)	0,96 (\pm 0,31)	0,98 (\pm 0,349)
ApoA-I (g/L)	1,3 (\pm 0,23)	1,43 (\pm 0,23)*	1,65 (\pm 0,25)**
Lp (a) (mg/L)	234,49 (\pm 17,99)	266,92 (\pm 297,71)	189,92 (\pm 214,91)
PCR (mg/L)	8,54 (\pm 7,04)	3,9 (\pm 3,6)*	1,97 (\pm 1,98)**
TAE (cc ³ /m ²)	59,53 (\pm 21,67)	54,56 (\pm 19,17)*	36,83 (\pm 16,57)**

*Basal vs. 12 meses p < 0,05; **Basal vs. control p < 0,05. \pm = desviación estándar.

Conclusiones: La optimización del control metabólico en pacientes con DM2 se asocia a una disminución del volumen TAE, así como un incremento en la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de HDL, que podrían estar asociados a cambios en la composición de estas partículas.

P-005. EXPRESIÓN Y REGULACIÓN CIRCADIANA DE LA GLUCOQUINASA EN MUESTRAS ORALES DE TRABAJADORES A TURNOS

F. Rodríguez Pacheco^{a,f}, E. García Fuentes^{a,e}, J.R. Fernández Bernárdez^c, M.S. Ruiz de Adana^{b,f}, G. Olveira Fuster^{b,f}, S. García Serrano^{b,f} y J.M. Gómez Zumaquero^d

^aIBIMA-Hospital Universitario Virgen y la Victoria, Málaga, España. ^bIBIMA-Hospital Regional de Málaga, Málaga, España.

^cFacultad de Telecomunicaciones-Universidad de Vigo, Vigo, España. ^dIBIMA-ECAI-Genómica-Plataforma BIONAND, Málaga, España. ^eCIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Instituto de Salud Carlos III, Málaga, España. ^fCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, Instituto de Salud Carlos III, Málaga, España.

Introducción: La glucoquinasa (GK) es una enzima clave en la homeostasis de la glucosa y por tanto diana en la terapia antidiabética. El trabajo por turnos ha aumentado mucho en los últimos años en respuesta a los cambios en la economía y a una mayor demanda de servicios 24/7. La turnicidad se ha asociado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y varios tipos de cáncer así como de diabetes tipo 2.

Objetivos: Evaluar la presencia y ritmidad circadiana de GK mediante PCR a tiempo real, en muestras bucales de trabajadores con tres turnos rotativos: noche (TN), tarde (TT) y mañana (TM).

Material y métodos: Estudio realizado en 21 trabajadores a turnos rotativos: Primera semana TN (22,00h-06,00h); segunda semana TT (14,00h-22,00h) y tercera semana TM (06,00h-14,00h). A cada sujeto se le suministró 7 torundas y 7 colectores con RLT para la conservación de la muestra. La recogida de muestra se realizó raspando 30 segundos con la torunda por la mucosa de la boca y conservándola en el colector a -20 °C. Las muestras se tomaron como sigue y siempre empezando el miércoles de cada semana: TN: (22,00h-02,00h-06,00h-10,00h-14,00-18,00h-22,00h día siguiente), TT: (14,00h-18,00h-22,00h-02,00h-06,00h-10,00h-14,00 día siguiente) y TM: (06,00h-10,00h-14,00h-18,00h-22,00h-02,00h-06,00h día siguiente). Se informó a los participantes de no beber, no fumar, no comer, no lavarse los dientes al menos una hora antes de la toma de mue-

tras. Los parámetros para estudiar los ritmos biológicos aplicados a la expresión encontrada de la GK en las muestras han sido: MESOR (valor medio de la variable), amplitud (diferencia entre el MESOR y el valor máximo o mínimo de una variable) y acrofase (tiempo en que la variable tiene su mayor expresión).

Resultados: Hemos observado que el MESOR va decreciendo a medida que nos acercamos al TN (TM = 126,19 \pm 4,81; TT = 106,00 \pm 4,13; TN = 94,67 \pm 3,70; p < 0,001), la amplitud va decreciendo a medida que avanza el turno de trabajo a la noche (TM = 96,34 \pm 8,48; TT = 69,49 \pm 4,00; TN = 62,34 \pm 5,47; p = 0,0003), mientras que las acrofases son prácticamente las mismas en los tres turnos estudiados (TM = 14,87 \pm 3,3; TT = 14,35 \pm 3,7; TN = 15,14 \pm 4,2, p = 0,1244).

Conclusiones: Hasta la fecha, este es el primer trabajo en que se ha medido la expresión de la GK en mucosa oral. La medición de GK en estas muestras abre una nueva vía de estudio más accesible e inmediata a través de una técnica mínimamente invasiva del metabolismo glucolítico. El descenso significativo en los parámetros MESOR y amplitud a medida que avanza el turno de trabajo nos podría estar indicando que el TT y TN y sobre todo este último pueden estar alterando la ritmidad circadiana de la GK en las muestras estudiadas.

P-006. GDF15 ACTIVATES AMPK AND INHIBITS GLUCONEOGENESIS AND FIBROSIS BY ATTENUATING THE SMAD3 PATHWAY

J. Jurado Aguilar^{a,b,c}, E. Barroso Fernández^{a,b,c}, M. Bernard Montuenga^{a,b,c}, M. Zhang^{a,b,c}, P. Rada Llano^{b,d}, Á.M. Martínez Valverde^{b,d}, W. Wahl^{e,f,g}, X. Palomer Tarridas^{a,b,c} and M. Vázquez Carrera^{a,b,c}

^aDepartamento de Farmacología, Toxicología y Química Terapéutica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación e Instituto de Biomedicina de la Universidad de Barcelona (IBUB), Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain. ^bCentro de Investigación Biomédica en Diabetes y Enfermedades Metabólicas asociadas (CIBERDEM)-Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

^cInstituto de Investigación Pediátrica-Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Spain. ^dInstituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (CSIC/UAM), Madrid, Spain. ^eCentro de Genómica Integrativa, Universidad de Lausana, Lausana, Switzerland. ^fFacultad de Medicina Lee Kong Chian, Universidad Tecnológica de Nanyang, Singapur, Singapore. ^goxAlim (Centro de Investigación en Toxicología Alimentaria), Tolouse, France.

Introduction: The metabolic sensor AMP-activated protein kinase (AMPK) has been reported to be reduced via unknown mechanisms

in the liver of mice deficient in growth differentiation factor 15 (GDF15). This is a stress response cytokine that regulates energy metabolism mainly by reducing food intake through its central receptor GFRAL.

Objectives: We examined how GDF15 regulates AMPK.

Materials and methods: By using wild-type and *Gdf15*^{-/-} mice, the human hepatic cell line Huh-7, and primary mouse hepatocytes.

Results: *Gdf15*^{-/-} mice exhibited glucose intolerance and reduced hepatic phospho-AMPK levels that were accompanied by an increase in the phosphorylated levels of the mediator of the fibrotic response mothers against decapentaplegic homolog 3 (SMAD3), together with increased gluconeogenesis and fibrosis. Recombinant (r)GDF15 increased AMPK activation and reduced phospho-SMAD3 and the levels of markers of gluconeogenesis and fibrosis in mouse primary culture of hepatocytes, indicating that these effects were independent of GFRAL. Pharmacological inhibition of SMAD3 phosphorylation in *Gdf15*^{-/-} mice prevented glucose intolerance, the deactivation of AMPK and the increase in the levels of proteins involved in gluconeogenesis and fibrosis, suggesting that SMAD3 overactivation was responsible for the metabolic alterations in these mice.

Conclusions: Overall, these findings indicate that GDF15 activates AMPK and inhibits gluconeogenesis and fibrosis by attenuating the SMAD3 pathway.

P-007. EXPLORING THE EFFECTS OF ENDOCRINE-DISRUPTING CHEMICALS ON PANCREATIC α AND β -CELL VIABILITY, GENE EXPRESSION AND FUNCTION

H. Ferrero Hidalgo^{a,b}, T. Boronat-Beldá^b, R. Al-Abdulla^b, S. Soriano^{b,c}, I. Quesada^{a,b} and P. Alonso-Magdalena^{a,b}

^aCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ^b Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDIIBE), Universidad Miguel Hernández, Elche, Spain.

^cDepartamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, Alicante, Spain.

Introduction and objectives: Endocrine-disrupting chemicals (EDCs) are chemical substances that can interfere with any aspect of hormone action. Phthalates and perfluoroalkylated substances are two of the most common categories of EDCs. Phthalates are plasticizers used in a wide range of daily products including toys, food packaging, cosmetic products, and medical equipment. Perfluoroalkylated substances (PFAs) are synthetic chemicals present in a variety of industrial and consumer products such as adhesives, cosmetics and cleaning products. Because of its widespread use EDCs are ubiquitous in our environment. Human exposure to them mainly occurs through the diet, inhalation, and even skin contact. The concerning impact of EDCs in human health has gained the interest of major international health organizations, as some of the most common EDCs, like phthalates and PFAs, have been associated with different diseases including metabolic disorders like type 2 diabetes. Despite this, today, there are still no definitive and standardized in vitro tools to assess the metabolic impact of existing and emerging EDCs for regulatory purposes. Here, we evaluated the biological applicability of different pancreatic cell-based model as a potential tool for EDCs screening. The aim was to evaluate the capacity of two of the most extended EDCs, bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS), to disrupt relevant metabolic endpoints in pancreatic α and β -cells.

Materials and methods: Different pancreatic cell-based *in vitro* systems like the murine pancreatic β -cell line MIN6, the human pancreatic β -cell line EndoC- β H1 and the murine pancreatic α -cell line α -TC1,9 were used. Cells were exposed to a wide range of EDC

concentrations (100 pM -10 μ M) for 24, 48, 72 hours or 7 days. The effects of DEHP and PFOS on cell viability, insulin and glucagon secretion, content and electrical activity, as well as changes on expression of essential genes involved in α -cell and β -cell identity and function were analysed.

Results: We found that PFOS and DEHP display a deleterious effect on key molecular aspects of pancreatic α - and β -cell biology like the stimulus-secretion coupling, the ion channel activity as well as the gene expression profile.

Conclusions: The present work shows the possibility of using the pancreatic cell lines assayed as sensitive screening tools for the identification of the potential diabetogenic environmental pollutants.

GENÉTICA E INMUNOLOGÍA

P-008. ASOCIACIÓN DEL PERFIL AUTOINMUNE CON VARIANTES CODIFICANTES NO-HLA DE RIESGO EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA CON DIABETES TIPO 1

P. Ros Pérez^{a,b}, C. Pérez Barrios^c, M. Díez Blanco^c, I. Martínez-Badás^a, N. Santiesteban Rodríguez^{c,d}, M.E. Colino Alcolea^a y M.E. Donoso Navarro^c

^aHospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Madrid, España. ^bDepartamento de Pediatría, Universidad Autónoma, Madrid, España. ^cServicio de Bioquímica, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Madrid, España. ^dInstituto de Investigación Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda (Idiphim), Madrid, España.

Introducción: La importancia de la interacción entre factores genéticos y ambientales en la patogénesis de la diabetes tipo 1 (DM1) es bien conocida. Así, la mitad del riesgo genético de padecer DM1 se ha atribuido a variantes HLA de clase II y del gen de la insulina (INS). No obstante, la contribución funcional de variantes localizadas en la región codificante no-HLA y su posible influencia en la heterogeneidad y evolución clínica de dicha entidad no es bien conocida.

Objetivos: 1) Analizar la posible asociación entre alelos no-HLA de riesgo y el perfil autoinmune (tiroiditis y enfermedad celiaca -EC-), en una cohorte de pacientes pediátricos diagnosticados de DM1.

Material y métodos: Se analizaron 163 pacientes pediátricos (< 18 años; 78 mujeres y 85 varones) con DM1 (edad media = 11,9 ± 4,2 años). Se analizaron 5 alelos localizados en regiones codificantes y 2 variantes intrónicas de los genes de Insulina (INS) y receptor de la Interleuquina 2 (IL2R-). La extracción de ADN se realizó mediante QIAamp[®] DNA Mini Kit (Qiagen). Las variantes se analizaron utilizando 6 sondas Taqman prediseñadas para los genes PTPN22 (C_16021387_20), CTLA4 (C_2415786_20), CD226 (C_1464836_20), SH2B3 (C_2981072_10), INS (C_1223317_10), IL2R (C_16095542_10) y 1 sonda de diseño customizado (ANWDE-JA) de ThermoFisher en un equipo de qPCR Step One Plus (Applied Biosystems). Los datos clínicos se recogieron de la Historia Clínica electrónica. La frecuencia poblacional se obtuvo de la base de datos Reference SNP Report (NIH) para raza caucásica. El análisis estadístico se realizó mediante el Stata v15.1. Software (StataCorp2017). Se consideró significación estadística una $p < 0,05$.

Resultados: Todas las variantes estudiadas se encontraron en mayor frecuencia que en la población de referencia (tabla). De 153 pacientes con datos de autoinmunidad pancreática (anti-GAD, anti-IA2 e anti-IA), 144 tuvieron algún anticuerpo positivo (94,1%) y 9 resul-