

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_{1c}, 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).

PR-003. IMPACTO DE LOS TRASTORNOS DE LA RESPIRACIÓN NOCTURNA EN LAS CARACTERÍSTICAS Y EVOLUCIÓN DE LA ÚLCERA DEL PIE DIABÉTICO

R. Ruano Esteban, M. Charles Costa, J. León Mengibar y A. Lecube Torrelló

Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, España.

Introducción: La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un factor de riesgo independiente para la hipoxia nocturna grave. En los pacientes con úlcera del pie diabético (UPD), esas horas de sueño podrían agravar la hipoxia tisular, favoreciendo el desarrollo de lesiones más graves y de evolución más tórpida.

Objetivos: Establecer la prevalencia de AOS en pacientes con UPD. Evaluar la asociación entre las características de la hipoxia nocturna y tanto las características de la UPD como su evolución. Establecer las bases para estudiar si el tratamiento del AOS puede mejorar el resultado y la evolución de las UPD.

Material y métodos: Incluimos 75 pacientes visitados en la Unidad de pie diabético del Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida entre septiembre 2023 y septiembre 2024. A todos los pacientes se les facilitaba los cuestionarios STOP-Bang y test de Epworth y se recogían datos de la historia clínica relacionados con la diabetes, AOS y la UPD (clasificación según riesgo de amputación, escala Wifl). Además, incluimos un grupo control de 75 pacientes sin úlcera visitados en la consulta general. En los casos en los que los resultados sugieren la presencia de un riesgo alto de presentar un AOS se ha

curado la derivación a la Unidad de Sueño para completar el diagnóstico.

Resultados: Se presentan en la tabla. Los pacientes ya diagnosticados de AOS son generalmente varones, con DM2, más añosos y con más tiempo de evolución de la diabetes, con IMC mayor, peor función renal y más polimedificados, respecto a los que no presentan AOS. Características similares presentan los pacientes con mayor puntuación en el test STOP-Bang, sin tener relación con peor puntuación en la escala Wifl ($p = 0,97$). En el análisis de regresión, se relacionan, de forma independiente, con una puntuación en la escala Wifl más elevada (y por tanto mayor riesgo de amputación) ser varón, tener peor control metabólico, la alteración del filtrado glomerular y la presencia de nefropatía diabética, tener antecedente de vasculopatía periférica y haber tenido una úlcera previa.

Características de la muestra

Variable	UPD	Control
Sexo varón (%)	83	45
DM 2 (%)	96	75
Edad (media)	67,5	63
Años evol. DM (media)	15,7	15
IMC (media)	29,8	30,2
HbA _{1c} (media)	7,7	7,3
RD (%)	41	21
ND (%)	33	30
PNP (%)	99	20
Vasculopatía (%)	37	3
Dº AOS (%)	14	10
STOP-BANG riesgo alto (%)	36	26

Conclusiones: Los pacientes que presentan pie diabético son pluripatológicos y complejos, difícilmente comparables con el resto de pacientes. El cuestionario STOP-Bang es una buena herramienta de screening, para poder completar el diagnóstico de AOS en los pacientes de alto riesgo, y una vez implementado el tratamiento tenemos que seguir estudiando la evolución de las UPD.

COMUNICACIONES ORALES 01: EXPERIMENTAL

CO-001. MITOCHONDRIAL OXIDATIVE STRESS IMPACT ON THE IMMUNE SYSTEM AS A BOOSTER OF CVD RISK IN T2D

S. Gallego Rodríguez^a, L. Doblado Bueno^b, M. Plexida^b, P. Solla^b, E. Jódar Gimeno^a and M. Monsalve^b

^aHospital Quironsalud Madrid, Spain. ^bInstituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreale (CSIC-UAM), Madrid, Spain.

Introduction and objectives: We aimed to evaluate if non-invasive blood tests based on the evaluation of immunometabolic biomarkers could be used for CVD risk assessment in T2D subjects.

Material and methods: We recruited a cohort of well controlled T2D patients of both sexes and monitored for early signs of CVD through the evaluation of carotid thickness (IMT) by ultrasound. The

patients were classified as normal (N) or abnormal (A) based on IMT values below or over 0.8 mm respectively. Blood samples were collected and separated into plasma and PBMCs.

Results: The subjects with abnormal IMT showed higher levels of circulating oxidated DNA and lower mtDNA content in PBMCs than normal IMT subjects suggesting increased mitochondrial dysfunction in these subjects. Consistently, targeted gene expression analysis of PBMCs further showed that subjects with abnormal IMT had significantly lower expression levels of SOD2 a mitochondrial antioxidant than normal IMT subjects, indicative of poor mitochondrial antioxidant control. Nevertheless, systemic antioxidant capacity was not reduced in abnormal IMT subjects as indicated by the evaluation of total antioxidant capacity in plasma samples. These alterations were associated with a significantly increased ND4/ND1 mitochondrial-gene ratio in abnormal IMT subjects detectable in plasma samples, suggesting increased mtDNA instability in these subjects. Furthermore, gene expression correlation analysis of PBMCs samples showed that the adjusted linear regression of PDK4, fatty acid oxidation biomarker, with PRDX3, a mitochondrial oxidative stress biomarker, was significantly altered in abnormal IMT subjects, that displayed higher PRDX3 levels for an any given PDK4 value than normal IMT subjects, further indicating the presence of enhanced mitochondrial oxidative stress in abnormal IMT subjects. Importantly, the evaluation of inflammatory markers showed that the expression levels of the anti-inflammatory cytokine IL-4 were significantly lower in PBMCs of abnormal IMT subjects and the correlation analysis with PDK3 showed a similar pattern to that observed with PDK4, suggesting that enhanced mitochondrial oxidative stress may be related to the lower IL-4 levels observed in abnormal IMT subjects.

Conclusions: IMT is associated with increased signs of mitochondrial dysfunction, oxidative stress and mtDNA damage that may be related with an altered inflammatory profile that could be relevant in CVD development in T2D subjects despite of the preservation of a good control of glucose levels.

CO-002. MODULACIÓN EPIGENÉTICA DE LA AUTOINMUNIDAD EN DIABETES TIPO 1: MIR-30D-5P PROMUEVE LA INMUNORREGULACIÓN EN LINFOCITOS T Y LA REGENERACIÓN DE CÉLULAS BETA

D. Klein^b, L. Gómez Muñoz^a, D. Perna Barrull^a, M. Doke^b, J. Domínguez Bendala^b, R. Pastori^b y M. Vives Pi^a

^aInstituto de Investigación Germans Trias i Pujol, Badalona, España. ^bDiabetes Research Institute, Miami, EE. UU.

La diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmunitaria compleja. Tras iniciar el tratamiento con insulina, la mayoría de los pacientes pediátricos experimentan un periodo de remisión parcial (RP), conocido como «luna de miel». Durante esta fase, las células β pancreáticas recuperan parcialmente su función, reduciendo la necesidad de insulina exógena y mejorando el control glucémico. Los mecanismos implicados podrían incluir menor estrés celular, regeneración de células β , regulación inmunitaria y mayor sensibilidad a la insulina. Previamente, en pacientes pediátricos, identificamos una firma de microARNs en plasma específica de la RP, en la que miR-30d-5p mostró la mayor concentración en comparación con los pacientes recién diagnosticados o sin RP. Además, la administración del inhibidor del miR-30d-5p en el ratón NOD (modelo experimental de DT1) mostró tendencia a aumentar el grado de insulinitis. Con el fin de determinar los mecanismos subyacentes a esta modulación, nuestro objetivo fue determinar el papel de miR-30d-5p en la inmunorregulación de los linfocitos T y la regeneración y recuperación funcional de las células β *ex vivo*. Para ello, electroporamos linfocitos T de controles o pacientes pediátricos previamente aislados y activados con un inhibidor del hsa-miR-30d-5p (oligonucleótido

antisentido) o una sonda irrelevante como control negativo. La inhibición de miR-30d-5p demostró que es esencial para la expresión de diversas moléculas inhibitoras incluyendo PD-1, CTLA-4, CD200, TIM-3 y LAG-3, así como para la producción de IFN- γ por los linfocitos T tanto de pacientes con DT1 como de controles. Estos datos apoyan el potencial inmunorregulador de miR-30d-5p para frenar la autoinmunidad. Además, llevamos a cabo estudios de trazado de linaje en *slices* (rodajas) pancreáticas humanas (HPs) utilizando un adenovirus específico de linaje que expresa Cre (Ad-Cre) bajo el promotor de insulina. En esta prueba de concepto, la transfección de miR-30d-5p mimic en las HPs demostró su capacidad de estimular la formación de nuevas células β que expresan insulina. Los experimentos preliminares de perfusión dinámica también revelaron que la expresión del miRNA podría ser necesaria para la secreción de insulina, según se determinó mediante el análisis del péptido C. Por último, mediante la secuenciación del ARN (bulk RNA-seq) comprobamos que el miR-30d-5p puede regular genes relacionados tanto con la función como con la regeneración de las células β humanas. De hecho, la inhibición del miR-30d-5p en las HPs se relaciona con una menor expresión de *BMPR1B*, señalización a través del cual es clave para la expresión de genes específicos de célula β en progenitores pancreáticos. En conclusión, hemos descrito por primera vez el efecto del miR-30d-5p en la inmunorregulación y en la función y regeneración de las células β humanas, lo que puede abrir nuevas vías para estrategias terapéuticas dirigidas a mejorar la preservación de las células β .

CO-003. EL LNCRNA ASOCIADO A DIABETES TIPO 1 LINCOS-LG REGULA LA APOPTOSIS DE LA CÉLULA BETA PANCREÁTICA

L. Bergara Muguza^{a,b}, J. Mentxaka Salgado^{a,b}, A. Castellanos Rubio^{a,b,c,d} e I. Santín Gómez^{a,b,c}

^aUniversidad del País Vasco, Leioa, España. ^bInstituto de Investigación Sanitaria Biobizkaia, Barakaldo, España. ^cCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Madrid, España. ^dIkerbasque Basque Foundation for Science, Bilbao, España.

Introducción y objetivos: La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune compleja que se desarrolla en individuos genéticamente susceptibles tras la exposición a factores ambientales, como infecciones virales. Varias variantes genéticas asociadas a la susceptibilidad a la T1D se encuentran en regiones no codificantes del genoma humano, incluyendo ARN largos no codificantes (lncRNAs). Una de estas, el ARN largo no codificante del ligando coestimulador inducible de linfocitos T (lncICOS-LG), presenta un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) (rs6518350) asociado a la DM1. El objetivo de este estudio es caracterizar la función de lncICOS-LG en las células β pancreáticas, en el contexto de la inflamación y las infecciones virales, y desvelar su posible papel en la patogénesis de la T1D.

Material y métodos: Se realizó un RNAseq en células EndoC- β H1 que expresaban el lncRNA con el alelo de riesgo o de protección para DM1 para identificar rutas regulados por el lncRNA. Se realizaron estudios funcionales *in vitro* basados en la sobreexpresión y disrupción del lncRNA para caracterizar la función del mismo.

Resultados: El lncRNA lncICOS-LG se expresa ampliamente en varios tejidos humanos, incluidas las células de los islotes pancreáticos y las células β . Su expresión aumenta en las células β pancreáticas humanas en respuesta al ácido poliinosínico-policitidílico (PIC), un análogo sintético de ARN de doble cadena que simula infecciones virales. Además, encontramos que su expresión es mayor en las fracciones celulares citoplásmicas tras la exposición intracelular al PIC. En el contexto de la inflamación, la expresión