

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 oxidized 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 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. Pastorí^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 insulitis. 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

do antisentido) o una sonda irrelevante como control negativo. La inhibición de miR-30d-5p demostró que es esencial para la expresión de diversas moléculas inhibidoras 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 (HPSs) 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 mimics en las HPSs 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 HPSs 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 LINCICOS-LG REGULA LA APOPTOSIS DE LA CÉLULA BETA PANCREÁTICA

L. Bergara Muguruza^{a,b}, J. Mentxaka Salgado^{a,b}, A. Castellanos Rubio^{a,b,c,d} e I. Santin 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-βH1 que expresaban el lncRNA con el alelo de riesgo o de protección para DM1 para identificar rutas reguladas 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 citoplasmáticas tras la exposición intracelular al PIC. En el contexto de la inflamación, la expresión