

Material and methods: We used 4-month old C57/Bl6 wild type mice treated or not with antibiotics (microbiota free; MF) to deplete the microbiota during 6 months. In addition, both groups (MF and control) were treated or not with compound- α to enhance intracellular H₂S production. Body weight and food intake of mice were monitored weekly. Health status was measured by neurocognitive test and physical test. Furthermore, we also evaluated the effect of compound- α on glucose homeostasis. Enzymatic H₂S production was measured in liver by lead acetate method. On the other hand, we evaluated the survival, viability and effects in mitochondrial dynamics of primary hepatocytes treated with the serum of the mice after 6 months of treatment.

Results: Compound- α has the ability to reduce body weight and white adipose tissue mass independently of the presence or absence of microbiota. At a neurocognitive level, compound- α enhances odor discrimination and increases the conditioned response in mice. In functional capacity test, compound- α increases the resistance in mice and enhances wire hang performance in mice with microbiota. Insulin sensitivity was improved by compound- α regardless of the presence or absence of microbiota. Curiously, mice treated with antibiotics exhibited enhanced glucose and insulin tolerance, with no visible effects of compound- α . In addition, liver H₂S enzymatic production was increased in mice treated with antibiotics. Finally, primary hepatocytes treated with serum of mice supplemented with compound- α increased cell death. Moreover, basal oxygen consumption rate (OCR) and extracellular acidification rate (ECAR) were reduced by serum of control mice treated with compound- α . Serum of MF groups also reduced OCR and ECAR in primary hepatocytes.

Conclusions: Our results show that potentiation of sulfur metabolism has therapeutic potential, improving the neurocognition, physical health and insulin sensitivity. Furthermore, the microbiota was not required for the beneficial effects of compound- α in several neurocognitive and physical test. Finally, compound- α -induced modulation of serum composition altering mitochondrial metabolism of primary hepatocytes.

P-003. CAMBIOS EN LOS NIVELES SÉRICOS

DE VEGFB SEGÚN LA INGESTA PREFERENCIAL DE ACEITE PODRÍAN ESTAR RELACIONADOS CON LOS EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN LA METILACIÓN DEL GEN VEGFB EN ADIPOCITOS, ASÍ COMO EN SU EXPRESIÓN Y NIVELES DE PROTEÍNA

W. Oualla Bachir^{a,b,c,d}, A. Lago Sampedro^{a,b,c,d}, S. Valdés^{a,d}, C. Maldonado Araque^{a,d}, S. García Serrano^{a,b,d}, G. Rojo Martínez^{a,b,d} y E. García Escobar^{a,b,d}

^aUGC Endocrinología y Nutrición, Hospital Regional Universitario de Málaga, España. ^bInstituto de Investigación Biomédica de Málaga, Plataforma Bionand, Málaga, España. ^cUniversidad de Málaga, España. ^dCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, Instituto de Salud Carlos III, Málaga, España.

Introducción: Los niveles circulantes del factor de crecimiento endotelial vascular B (VEGFB) se asocia con enfermedades metabólicas relacionadas con resistencia a la insulina. El tejido adiposo es el segundo órgano con mayor expresión génica de VEGFB. La regulación de su síntesis y liberación podría ser un objetivo terapéutico contra la acumulación patológica de lípidos en trastornos metabólicos. La metilación del ADN del primer intrón de los genes se considera altamente informativa de la expresión génica.

Objetivos: Investigar la asociación entre el consumo preferencial de aceite y los niveles séricos de VEGFB en humanos, y determinar si los efectos de los ácidos grasos oleico y linoleico sobre la expresión

y liberación de VEGFB en adipocitos humanos están relacionados con modificaciones en la metilación del ADN del primer intrón de VEGFB.

Material y métodos: Los niveles séricos de VEGFB de 4.647 adultos (> 18 años), participantes del estudio nacional, transversal y poblacional Di@bet.es fueron determinados mediante ELISA. Las células adiposas viscerales humanas comerciales fueron tratadas durante 24 h con ácidos grasos oleico, linoleico o mezcla 1:1 de ambos. Las células y sobrenadantes fueron recolectados para la determinación de los niveles de VEGFB liberado y para los estudios de metilación y expresión génica. Las diferencias en los niveles séricos de VEGFB según el consumo preferencial de aceite se midieron mediante GLM Univariante ajustado por edad, sexo e IMC. Las pruebas estadísticas Kruskal-Wallis, U de Mann-Whitney y correlación de Spearman fueron utilizadas para evaluar los cambios en los niveles de VEGFB y metilación según tratamiento.

Resultados: Se observaron niveles circulantes de VEGFB más altos en sujetos que consumían preferentemente aceite de oliva vs. aquellos que consumían aceite de girasol y/o mezcla (43,83 ± 1,42 vs. 40,86 ± 0,97; p < 0,001). Las células tratadas con ácido linoleico (ácido linoleico y/o mezcla) mostraron una reducción significativa de la expresión génica de VEGFB (p_{linoleico} < 0,05; p_{mezcla} < 0,01) y de los niveles de proteína liberada (p < 0,01 ambos), con una correlación directa entre la expresión génica de VEGFB y la proteína VEGFB liberada al medio (r^2 = 0,690; p < 0,01). El tratamiento con ácidos grasos de los adipocitos humanos modificó el estado de metilación del primer intrón de VEGFB, con el porcentaje de metilación más alto en células tratadas con ácido linoleico en el medio. Los niveles de metilación del primer intrón de VEGFB se correlacionaron inversamente con la expresión génica de VEGFB (r^2 = -0,448; p < 0,01) y la proteína liberada de los adipocitos (r^2 = -0,564; p < 0,01).

Conclusiones: Los niveles de metilación del primer intrón de VEGFB están asociados con la expresión génica y proteína VEGFB en adipocitos viscerales humanos. Niveles bajos de VEGFB en sujetos con un consumo preferencial de aceite de girasol o mezclas podrían estar relacionados con el efecto del ácido linoleico disminuyendo la expresión génica y la secreción de VEGFB en adipocitos.

P-004. EL GEN CANDIDATO A DIABETES TIPO 1, EBI2, MODULA LA DISFUCIÓN DE LAS CÉLULAS β INDUCIDA POR VIRUS MEDIANTE LA REGULACIÓN DE LA VÍA DE IRF7

R. Sousa dos Santos^{a,b,c}, L. Marroqui^{b,c}, A. Montalvà Giménez^b, S. Cortell Mera^b, D. Guzmán-Llorens^b, I. Santin^{c,d,e} y D. Eizirik^f

^aUnidad de Investigación, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Hospital General Universitario de Elche, España.

^bInstituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDIbe), Universidad Miguel Hernández de Elche, España. ^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

^dDepartment of Biochemistry and Molecular Biology, University of the Basque Country, Leioa, España. ^eBiocruces Bizkaia Health Research Institute, Barakaldo, España. ^fULB Center for Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles, Bruselas, Bélgica.

Introducción y objetivos: Las etapas iniciales de la diabetes tipo 1 (DT1) se caracterizan por inflamación de los islotes, influenciada en parte por la interacción entre la susceptibilidad genética y los desencadenantes ambientales. Los estudios de ligamiento y asociación en todo el genoma han identificado más de 70 loci en el genoma humano asociados con el riesgo de DT1. De interés, un SNP en el gen inducido por el virus de Epstein-Barr 2 (EBI2) ha demostrado regular una red inflamatoria impulsada por el factor regulador de interferón

7 (IRF7) en monocitos que podría contribuir al riesgo de DT1. Como se sabe poco sobre la función de EBI2 en las células β , nuestro objetivo fue evaluar si EBI2 desempeña un papel en las respuestas de las células β a las "señales de peligro" y determinar los mecanismos implicados.

Material y métodos: Células INS-1E fueron transfectadas con ARN de interferencia dirigidos a EBI2 y posteriormente expuestas a ácido poliinosínico-policitidílico (PIC; un análogo sintético de ARN bicatenario viral). La apoptosis se evaluó mediante tinción con Hoechst-yoduro de propidio. La expresión génica y proteica se determinó mediante qPCR y *western blot*, respectivamente. La actividad del promotor del elemento de respuesta estimulado por interferón (ISRE) se evaluó mediante ensayo de luciferasa.

Resultados: La inhibición de EBI2 indujo apoptosis en condiciones basales y aumentó aún más la apoptosis inducida por PIC. En comparación con células control, las células con EBI2 silenciado expuestas a PIC mostraron niveles más altos de ARNm del factor de transcripción IRF7, las quimiocinas CXCL10 y CCL5, y la citocina IFN β . Los estudios de actividad del promotor mostraron que el silenciamiento de EBI2 incrementó la actividad ISRE inducida por PIC casi 10 veces, mientras que la actividad de IFN β fue 6 a 10 veces mayor en células con EBI2 inhibido. Cabe destacar que el silenciamiento de EBI2 exacerbó la actividad ISRE inducida por IFN α , IFN γ o IFN γ +IL-1 β . Para evaluar si el sensor viral MDA5 estaba implicado en la actividad de IFN β inducida por PIC, se utilizó un enfoque de doble silenciamiento EBI2/MDA5. Tras la exposición a PIC, el doble silenciamiento de EBI2/MDA5 disminuyó la actividad de IFN β secundaria a la inhibición de EBI2. Finalmente, un doble silenciamiento EBI2/IRF7 mostró que IRF7 era clave para el aumento de la actividad de IFN β en células tratadas con PIC y con EBI2 silenciado.

Conclusiones: Estos resultados indican que EBI2 modula las respuestas antivirales en células β a través de la activación de MDA5 e IRF7. Dado que EBI2 regula potencialmente la vía IDIN en monocitos, esta vía podría ser crucial para la respuesta inmune autónoma de las células β contra infecciones. Estos hallazgos serán confirmados en células β humanas EndoC- β H1 y en islotes humanos.

P-005. LA INHIBICIÓN DE LA INTERACCIÓN TYK2-IFNAR1 PREVIENE APOPTOSIS INDUCIDA POR CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS EN CÉLULAS #BETA PANCREÁTICAS: POSIBLE TERAPIA PREVENTIVA PARA LA DT1

D. Guzmán-Llorens^a, S. Cortell-Mera^a, A. Montalvà^a, C. Moreno-Castro^b, M. Igoillo-Esteve^b, R.S. dos Santos^c y L. Marroqui^{a,d}

^aInstituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universidad Miguel Hernández de Elche, España. ^bULB Center for Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles, Bruselas, Bélgica. ^cUnidad de Investigación, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Elche, España. ^dCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, CIBERDEM, Madrid, España.

Introducción y objetivos: La diabetes tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por el ataque del sistema inmune sobre las células β . Los interferones tipo 1, como IFN α , son clave en la patogénesis inicial de la DT1 mediando la sobreexpresión de MHC de clase I, el estrés de retículo endoplasmático y la apoptosis de las células β . Se ha propuesto la vía de señalización de IFN tipo 1 como posible diana terapéutica para la DT1. De hecho, ciertos inhibidores de las proteínas janus quinasa (JAK) de primera generación son potenciales candidatos como terapia preventiva en DT1. Pero, presentan ciertos problemas, incentivando descubrir nuevas formas de inhibir estas proteínas. Anteriormente, nuestro grupo propuso una

metodología de cribado bioinformático por la cual obtuvimos varios potenciales inhibidores de la interacción entre los dominios FERM-SH2 de TYK2 y el receptor de IFN α , IFNAR1. El objetivo de este trabajo consiste en la caracterización del potencial inhibitorio del compuesto seleccionado (TYK2i), el cual presentó los mejores resultados tras el cribado, profundizando en su mecanismo de acción y su potencial inhibitorio de la señalización de IFN α en las células α y β pancreáticas.

Material y métodos: IFN α solo o junto IL-1 β fueron utilizados para reproducir el entorno proinflamatorio de la DT1. La expresión proteica y activación de las vías de señalización de STAT1/2/3, JNK, c-Jun y SOCS3 se analizaron mediante *western blot*. La expresión génica se midió mediante RT-qPCR. Se analizó la secreción de quimiocinas mediante ensayo *Multiplex*. Y finalmente se comprobó la viabilidad (mediante HO/PI) en líneas celulares inmortalizadas de células β (MIN6 y EndoC- β H1) y α (α TC1,9), así como en células β derivadas de iPSCs.

Resultados: Al analizar el efecto en la viabilidad, se puede ver como el tratamiento con el compuesto 4 entre 0,5 y 5 μ M presenta un efecto protector en las distintas líneas celulares ($n = 4$; $p \leq 0,05$) así como en las células β derivadas de iPSCs ($n = 4$; $p \leq 0,05$). Sin embargo, al analizar la vía clásica de IFN α mediante la activación de STAT1/2 por fosforilación, las diferencias observadas no explican los efectos protectores de C4 en apoptosis ($n = 5$). Al analizar otras vías activadas por IFN α , nos encontramos con una disminución de la fosforilación de STAT3 de un 30% ($n = 3$; $p \leq 0,05$) y una tendencia de reducción de JNK ($n = 3$). Sin embargo, no hemos observado cambios significativos en SOCS3 ($n = 3$).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que este inhibidor de la interacción TYK2-IFNAR1 puede ser un potencial tratamiento preventivo para la DT1. C4 exhibe un claro efecto protector frente a la apoptosis inducida por citoquinas propias de la fase temprana de DT1, aunque es necesario ahondar en los mecanismos y vías de señalización implicadas en esta protección.

P-006. ALTERACIONES DEL RITMO CIRCADIANO, ESTRÉS OXIDATIVO E INTERACCIONES LEUCOCITO-ENDOTELIO EN LA ENFERMEDAD RENAL DIABÉTICA. ESTUDIO PRELIMINAR

C. Luna Marco^a, S. López-Doménech^b, E. Solá^c, V. Escudero^d, A. Sancho^d, V.M. Víctor^{a,b,e} y S. Rovira-Llopis^b

^aDepartamento de Fisiología, Universitat de València, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España. ^bServicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Peset, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica en la Comunidad Valenciana (FISABIO), Valencia, España. ^cServicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Peset, Valencia, España. ^dServicio de Nefrología, Hospital Universitario Peset, Valencia, España. ^eCIBERehd, Departamento de Farmacología, Universitat de València, España.

Introducción: La enfermedad renal diabética (ERD) es una de las comorbilidades más frecuentes de la diabetes tipo 2 (DM2). Sin embargo, se desconoce si la disrupción del ritmo circadiano y la disfunción mitocondrial y leucocito-endotelial son mecanismos subyacentes.

Objetivos: Evaluar la posible alteración del ritmo circadiano, la función mitocondrial y las interacciones leucocito-endotelio en pacientes con DM2 con y sin ERD respecto a sujetos sanos.

Material y métodos: Se reclutaron 23 sujetos sanos y 35 con DM2, 27 de ellos sin ERD y 8 con ERD en los Servicios de Endocrinología y Nutrición y de Nefrología del Hospital Universitario Peset (Valencia) y se les extrajo una muestra de sangre periférica. Los hábitos de sueño se registraron mediante el Cuestionario de Cronotipo de Mu-