

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 también 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 β PANCREÁTICAS: POSIBLE TERAPIA PREVENTIVA PARA LA DT1

D. Guzmán-Llorens^a, S. Cortell-Mera^a, A. Montalvã^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, Brussels, 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 explicaban 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-