



## P-066 - LOS LEUCOCITOS DE PACIENTES CON DIABETES TIPO 1 PRESENTAN MAYOR INTERACCIÓN CON EL ENDOTELIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y ALTERACIONES MITOCONDRIALES

F. Canet Suquillo<sup>a</sup>, P. Díaz Pozo<sup>a</sup>, Z. Abad Jiménez<sup>a</sup>, R. Falcón Tapiador<sup>a</sup>, T. Vezza<sup>a</sup>, M. Rocha Barajas<sup>a</sup> y V. Víctor González<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Endocrinología y Nutrición, Hospital Doctor Peset-FISABIO, Valencia, España. <sup>b</sup>Departamento de Fisiología, Universidad de Valencia, Valencia, España.

### Resumen

**Objetivos:** Existe una estrecha relación entre el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (ECV) y la diabetes. La hiperglicemia es un factor importante en el desarrollo de ECV al inducir estrés oxidativo. La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO) promueve el proceso aterosclerótico al aumentar la inflamación en las paredes arteriales. El objetivo de este estudio fue evaluar parámetros de estrés oxidativo, inflamación e interacción leucocito-endotelio en pacientes con diabetes tipo 1 (DM1).

**Material y métodos:** Se reclutaron cuarenta pacientes sanos y cuarenta y cinco con DM1. Se midieron variables antropométricas y se recogieron muestras de sangre para análisis bioquímicos y moleculares. En el suero de los pacientes se analizaron los niveles de moléculas de adhesión leucocitaria P-selectina, VCAM1 e ICAM1, las citoquinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-6 y la enzima mieloperoxidasa mediante Luminex. Se evaluó la interacción leucocito-endotelio utilizando microscopía flow-chamber, y los parámetros de función mitocondrial se analizaron mediante citometría estática utilizando las sondas fluorescentes DCFH-DA para producción total de ERO, MitoSOX para el ERO mitocondrial y TMRM para el potencial de membrana mitocondrial. Finalmente, se midió la expresión génica de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD1) y catalasa mediante qPCR.

**Resultados:** Los leucocitos de los pacientes con DM1 mostraron una mayor interacción con el endotelio debido a que se observó menor velocidad de rodamiento ( $p < 0,001$ ), mayor flujo de leucocitos en rodamiento ( $p < 0,01$ ) y mayor adhesión al endotelio ( $p < 0,001$ ). En concordancia, se encontró en el suero de pacientes DM1 una mayor concentración de P-selectina ( $p < 0,05$ ), VCAM1 ( $p < 0,01$ ) e ICAM1 ( $p < 0,001$ ). En cuanto a parámetros inflamatorios, los DM1 presentaron un aumento de TNF- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) y mieloperoxidasa ( $p < 0,05$ ) en suero, pero no hubo diferencias en IL-6. Los leucocitos de pacientes con DM1 mostraron un aumento de ERO totales ( $p < 0,05$ ) y presentaron alteraciones en la mitocondria al encontrar mayores niveles de ERO mitocondrial y mayor potencial de membrana mitocondrial (ambos  $p < 0,05$ ). Además, se encontró que la expresión génica de SOD1 está reducida en los leucocitos de DM1 ( $p < 0,05$ ), y no hubo cambios en la expresión de catalasa. Finalmente, se encontró correlación negativa entre la velocidad de rodamiento leucocitaria y la producción de ERO total ( $r = -0,395$ ,  $p < 0,05$ ) y correlación positiva

entre el flujo de leucocitos en rodamiento y TNF- $\alpha$  ( $r = 0,469$ ,  $p < 0,05$ ); también entre TNF- $\alpha$  y el potencial de membrana mitocondrial ( $r = 0,406$ ,  $p < 0,05$ ).

**Conclusiones:** Podemos concluir que este estudio provee evidencia de que el estrés oxidativo y las alteraciones mitocondriales pueden estar relacionadas con el aumento de la interacción leucocito-endotelio y la inflamación observada en la DM1 y en el desarrollo de las ECV.

Agradecimientos: este estudio fue financiado por los siguientes proyectos PI19/0838, PI19/0437, PROMETEO/2019/027 y ERDF ``A way to build Europe'' y por las siguientes becas GRISOLIAP/2019/091, ACIF/2020/370, FI17/00144, PTA2017-14355-I, CD19/00180 y CPII16/0037.