

## ANÁLISIS DE LA LONGITUD TELOMÉRICA EN DIABETES TIPO MODY

Millán Andrea<sup>1</sup>, Trobo Sofia Irene<sup>1</sup>, De Dios Alejandro<sup>2</sup>, Pérez María Silvia<sup>3</sup>, Frechtel Gustavo<sup>1</sup>, López Ariel Pablo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Genética, Inmunología y Metabolismo (INIGEM). <sup>2</sup>División Genética, Hospital de Clínicas José de San Martín. <sup>3</sup>Laboratorio Manlab.

Contacto: andreamillan24@hotmail.com

**Introducción:** el acortamiento de los telómeros se asocia al cambio en la capacidad replicativa de las células, convirtiéndose en un marcador de envejecimiento celular. Factores externos, como los estados inflamatorios y el *stress* oxidativo pueden acelerarlo. Está demostrado que se produce una disminución de la longitud telomérica (LT) en patologías como la diabetes tipo 2 (DM2) que se incrementa conforme aumenta el tiempo de evolución de la patología. MODY es una forma de diabetes monogénica heterogénea y no insulino dependiente. Existen varios tipos causados por alteraciones en distintos genes, siendo los más comunes los tipos 2 y 3 con una clínica que puede confundirse con las DM2 y DM1 respectivamente. Las características clínicas oscilan entre hiperglucemias moderadas (MODY2) e hiperglucemias mantenidas (MODY3). Ambos tipos presentan como defecto primario la alteración en la secreción de insulina y ausencia de insulinoresistencia e inflamación subclínica, a diferencia de los DM2.

**Objetivos:** siendo que la hiperglucemia crónica presente en los MODY puede influir en la LT, y que no se conoce el estado de LT en ellos, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar y comparar la LT entre individuos diagnosticados genéticamente como MODY2 o MODY3 con controles no diabéticos. En caso de haber diferencias la LT podría utilizarse como marcador diferencial.

**Materiales y métodos:** se analizaron 40 controles, 26 con diagnóstico genético de MODY2 y 9 de MODY3. La determinación de la LTa se realizó por el método de cuantificación absoluta por qPCR. Se midió la relación entre los kpb de secuencias teloméricas y el número de copias del gen de copia única RPLPO (radio T/S). El análisis estadístico se llevó a cabo por Anova de una vía y regresión lineal en SPSS con nivel de significación de 0,05.

**Resultados:** no encontramos diferencias significativas en la LT entre los MODY tipos 2 y 3, sin embargo ambos presentaron una LT más corta en comparación con los controles ( $p=0,023$ ) que se mantuvo al ajustar por factores no modificables (covariables: edad, sexo) ( $p=0,010$ ).

**Conclusiones:** hasta nuestro conocimiento, éste es el primer reporte de LT en MODY. Hemos hallado que los pacientes MODY presentan una LT significativamente más corta que los controles, probablemente debido a la presencia de hiperglucemia crónica, la que podría constituirse en un marcador sencillo y económico para una efectiva caracterización diferencial del tipo de diabetes previo al estudio genético específico.

## DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS ANTI-PROINSULINA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS AUTOINMUNE

Sabljic Adriana Victoria<sup>1</sup>, Faccinetti Natalia Inés<sup>2</sup>, Guerra Luciano Luca<sup>3</sup>, Penas Steinhart Alberto<sup>4</sup>, Marfía Juan Ignacio<sup>5</sup>, Trabucchi Aldana<sup>6</sup>, Poskus Edgardo<sup>7</sup>, Valdez Silvina Noemí<sup>8</sup>

<sup>1-8</sup> Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA e IDEHU, CONICET, UBA. Contacto: asabljic@hotmail.com

**Introducción:** los autoanticuerpos anti-proinsulina (PAA) son los primeros que aparecen durante el desarrollo de diabetes mellitus tipo 1 (DM1), por lo cual su detección será muy útil para el diagnóstico precoz de la patología. El método radio-métrico de referencia (RBA) para su detección es de alta sensibilidad y especificidad, pero presenta alto costo, es altamente contaminante y requiere de personal capacitado y centros con habilitación necesaria.

**Objetivos:** desarrollar y optimizar un inmunoensayo para la detección de PAA basado en citometría de flujo (CF), empleando microesferas adsorbidas con proinsulina (PI) recombinante.

**Materiales y métodos:** se emplearon 36 sueros de individuos controles normales y 24 muestras de pacientes infante juveniles con DM1, PAA positivos por RBA. Para la CF se empleó un modelo de doble paratope en el cual se incubaron durante cuatro días, los sueros con microesferas de poliestireno de 5 µm adsorbidas con PI expresada en *E. coli* como proteína de fusión con tiorredoxina (TrxPI) y TrxPI-biotina. Los inmunocomplejos formados se reportaron con estreptavidina-ficoeritrina. La detección por CF se realizó a 488 nm (longitud de onda de excitación). Se analizó la media geométrica (GeoM) de las señales obtenidas y los resultados se expresaron en Standard Deviation scores: SDs= (GeoMsuero analizado-GeoMmedia controles normales)/desvío estándar controles normales.

**Resultados:** la mediana de los resultados obtenidos con los sueros de individuos controles normales resultó significativamente diferente a la de los sueros de pacientes con DM1 ( $p=0,0068$ ). Con el fin de seleccionar el *cut off* con la máxima sensibilidad y especificidad, se realizaron curvas trazando dichos parámetros frente a los valores de *cut off* correspondientes, seleccionándose SDs>3,0 como umbral de positividad. Así, la especificidad del método fue de 86,1%. De los 24 sueros de pacientes con DM evaluados, 14 fueron positivos por CF, con señales que oscilaron entre 1,113 y 30,294 SDs y mediana de 3,880 siendo la sensibilidad obtenida del 58,3%. Asimismo se analizó el área bajo la curva ROC que fue del 0.7054, indicando que el método presenta una performance aceptable.

**Conclusiones:** se logró desarrollar un inmunoensayo por CF para la detección de PAA con buena sensibilidad y menor complejidad e impacto ambiental que el RBA. Los resultados obtenidos factibilizan el desarrollo de inmunoensayos para la detección simultánea y discriminativa de los principales marcadores de autoinmunidad en DM, empleando microesferas de distinto tamaño o fluorescencia interna adsorbidas con los diferentes autoantígenos, las cuales son fácilmente discriminables en el citómetro de flujo.