

II CONGRESO

INVESTIGACIÓN PTS GRANADA

Libro de resúmenes

9, 10 y 11 febrero 2022



investiga.granadaessalud.es

ORGANIZADORES Y PATROCINADORES



Organizan



Patrocinan



Este II Congreso de Investigación del PTS supone una oportunidad para empresas e instituciones interesadas en el sector sanitario que, además de brindar su apoyo a un sector estratégico para la ciudad, podrán consolidar su imagen entre una audiencia que incluye más de 400 investigadores y profesionales de la salud, así como estudiantes y otros actores de la sociedad civil.

ÍNDICE DE CONTENIDOS



COMITÉS (P4)

PROGRAMA GENERAL (P5)

PONENCIAS (Día 1 - 9 febrero 2022)

- SESIÓN 1 / Neurociencias (08)
- SESIÓN 2 / Oncología (18)
- SESIÓN 3 / Enfermedades inflamatorias e infecciosas (35)

PONENCIAS (Día 2 - 10 febrero 2022)

- SESIÓN 4 / Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina (49)
- SESIÓN 5 / Medicina de precisión (65)
- SESIÓN 6 / Investigación en COVID-19 (73)
- SESIÓN 7 / Nutrición y tecnología de alimentos (82)
- SESIÓN 8 / Deporte y salud (93)
- SESIÓN 9 / Sanidad animal y vegetal (104)

PONENCIAS (Día 3 - 11 febrero 2022)

- SESIÓN 10 / Enfermedades raras (110)
- SESIÓN 11 / Epidemiología y salud pública (118)
- SESIÓN 12 / Gastroenterología y endocrinología (127)
- SESIÓN 13 / Enfermedades respiratorias y cardiovasculares (133)
- SESIÓN 14 / Prestación de servicios y apoyo a la investigación (140)
- SESIÓN 15 / Inteligencia Artificial y Biotecnología en Biomedicina (151)

PÓSTERES (Día 1 - 9 febrero 2022)

- SESIÓN 1 / Neurociencias (159)
- SESIÓN 2 / Oncología (175)
- SESIÓN 3 / Enfermedades inflamatorias e infecciosas (210)

PÓSTERES (Día 2 - 10 febrero 2022)

- SESIÓN 4 / Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina (235)
- SESIÓN 5 / Medicina de precisión (266)
- SESIÓN 6 / Investigación en COVID-19 (278)
- SESIÓN 7 / Nutrición y tecnología de alimentos (282)
- SESIÓN 8 / Deporte y salud (309)
- SESIÓN 9 / Sanidad animal y vegetal (320)

PÓSTERES (Día 3 - 11 febrero 2022)

- SESIÓN 10 / Enfermedades raras (324)
- SESIÓN 11 / Epidemiología y salud pública (327)
- SESIÓN 12 / Gastroenterología y endocrinología (336)
- SESIÓN 13 / Enfermedades respiratorias y cardiovasculares (341)
- SESIÓN 14 / Prestación de servicios y apoyo a la investigación (343)
- SESIÓN 15 / Inteligencia Artificial y Biotecnología en Biomedicina (349)

COMITÉS



COMITÉ CIENTÍFICO

MARIO DELGADO, Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra" (IPBLN-CSIC)

MIGUEL RODRÍGUEZ BARRANCO, Escuela Andaluza de Salud Pública

NOELIA GALIANO CASTILLO, Universidad de Granada

FERNANDO REYES, Fundación MEDINA

ALFONSO CLEMENTE, Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC)

CONSOLACIÓN MELGUIZO ALONSO, Universidad de Granada

JUAN DAVID REJÓN GARCÍA, Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

KARIM BENABDEL, Centro Pfizer-UGR-JA de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO)

AZAHARA MOLINERO MANZANO, Cámara de Comercio de Granada

EXPERTOS

ANA LETICIA JIMÉNEZ ESCOBAR, Inves Biofarm

BEATRIZ GARCÍA FONTANA, ibs.Granada Instituto de Investigación Sanitaria

EDUARDO REDONDO CEREZO, Hospital Universitario Virgen de las Nieves

ELENA GONZÁLEZ REY, Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra" (IPBLN-CSIC)

ENCARNACIÓN GONZÁLEZ FLORES, Hospital Universitario Virgen de las Nieves

FEDERICO GARCÍA GARCÍA, Hospital Universitario Clínico San Cecilio

FELIPE GARCÍA PINILLOS, Universidad de Granada

FRANCISCA VICENTE PÉREZ, Fundación MEDINA

FRANCISCO JAVIER O'VALLE RAVASSA, Universidad de Granada

JAVIER MARTÍN IBÁÑEZ, Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra" (IPBLN-CSIC)

JOSÉ ANTONIO LÓPEZ ESCÁMEZ, Universidad de Granada

JOSÉ JUAN JIMÉNEZ MOLEÓN, Universidad de Granada

JOSÉ LUIS CALLEJAS, Universidad de Granada

JOSÉ LUIS MARTÍN RODRÍGUEZ, Universidad de Granada

JOSÉ LUIS QUILES MORALES, Universidad de Granada

JOSÉ M^a NAVARRO, Universidad de Granada

JUAN DAVID REJÓN GARCÍA, Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

JUAN JIMÉNEZ JÁIMEZ, Hospital Universitario Virgen de las Nieves

JURISTO FONOLLÁ JOYA, Universidad de Granada

KARIM BENABDEL LAH EL KHLANJI, Centro Pfizer-UGR-JA de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO)

MARÍA ARÁNTZAS AGUINAGA CASAÑAS, Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC)

MARÍA JOSÉ SÁNCHEZ PÉREZ, ibs.Granada Instituto de Investigación Sanitaria

MARIO DELGADO MORA, Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra" (IPBLN-CSIC)

MATILDE BARÓN AYALA, Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC)

MIGUEL ALAMINOS, Universidad de Granada

MILAGROS GALLO TORRE, Universidad de Granada

OLGA GENILLOUD, Fundación MEDINA

PALOMA MUÑOZ DE RUEDA, Universidad de Granada

PURIFICACIÓN CATALINA CARMONA, Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

VIRGINIA ARIANNA APARICIO GARCÍA-MOLINA, Universidad de Granada

COMITÉ ORGANIZADOR

MARÍA OGÁYAR LUQUE, Fundación Parque Tecnológico de la Salud

AZAHARA MOLINERO MANZANO, Cámara de Comercio de Granada

CRISTINA SÁNCHEZ GONZÁLEZ, Universidad de Granada

ROSARIO PRIETO HERMOSO, Escuela Andaluza de Salud Pública (EASP)

OSCAR HUERTAS ROSALES, Laniakea Management & Communication

ADELINA PASTOR CAÑEDO, Laniakea Management & Communication

JOSÉ FERNANDO RAMÍREZ CALERO, Laniakea Management & Communication

SARA AMARO SERRANO, Laniakea Management & Communication

VOLUNTARIOS

- ALBA ORTIGOSA PALOMO
- ANA CEPERO MARTÍN
- ANA ISABEL GUZMÁN CARRASCO
- ANDREÍNA CECILIA PERALTA LEAL
- BEATRIZ GARCÍA PINEL
- CRISTINA LUQUE UCEDA
- CRISTINA MESAS HERNÁNDEZ
- DANIEL HINOJOSA NOGUEIRA
- FRANCISCO JOSÉ QUIÑONERO MUÑOZ
- GLORIA PERAZZOLI

- INMACULADA MOSCOSO RUIZ
- JUAN MANUEL TOLEDANO DUEÑAS
- JULIA LÓPEZ DE ANDRÉS
- MARÍA DEL VALLE GILES MANCILLA
- MARÍA GARCÍA BURGOS
- MARÍA DEL CARMEN GÓMEZ REGALADO
- MARÍA MERCEDES PEÑA CONTRERAS
- MARÍA PUCHE JUÁREZ
- VIVIANA GABRIELA RAMÍREZ LÓPEZ
- YOLANDA GÁLVEZ ONTIVEROS

09:00 – 09:30

Apertura y bienvenida

09:30 – 10:30

Conferencia Plenaria Inaugural.

Impartida por Almudena Ramiro, investigadora del CNIC y premio Ciencias de la Salud de la Fundación Caja Rural Granada.

10:30 – 13:30

Sesión de pósters: Neurociencias, Oncología, Enfermedades inflamatorias e infecciosas.

14:30 – 17:30

SESIONES PARALELAS.

Neurociencias

Coordinadoras: Milagros Gallo (UGR) y Elena González Rey (IPBLN-CSIC)

Oncología I

Coordinadores: Encarnación González Flores (Hospital Virgen de las Nieves) y Francisco O'Valle Ravassa (UGR)

Enfermedades inflamatorias e infecciosas Coordinadores

Olga Genilloud (Fundación Medina) y José María Navarro Marí (Hospital Virgen de las Nieves)

09:00 – 11:30

SESIONES PARALELAS

Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina

Coordinadores: Karim Benabdel (GENYO) y Miguel Alaminos (UGR)

Medicina de precisión

Coordinador: Javier Martín Ibáñez (IPBLN-CSIC)

Investigación en COVID-19

Coordinadores: Federico García y José Luis Callejas (Hospital Clínico San Cecilio)

11:30 – 14:30

Sesión de pósters: Terapias avanzadas, Medicina de precisión, Covid-19, Nutrición y tecnología de los alimentos, Deporte y salud, Sanidad animal y vegetal.

15:30 – 18:00

SESIONES PARALELAS.

Nutrición y tecnología de alimentos

Coordinadores: José Luis Quiles (UGR) y Juristo Fonollá (DOMCA)

Deporte y salud

Coordinadores: Felipe García Pinillos (UGR) y Virgina Aparicio García- Molina

Sanidad animal y vegetal

Coordinadoras: Matilde Barón (EEZ-CSIC) y Arancha Aguinaga (DOMCA)

Terapias avanzadas II: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina (17:00 a 18:30)

Coordinadores: Karim Benabdel (GENYO) y Miguel Alaminos (UGR)

09:30 – 11:30

SESIONES PARALELAS.

Enfermedades raras

Coordinadores: Ana Leticia Jiménez Escobar (InvesBiofarm) y Antonio López Escámez (GENYO)

Epidemiología y salud pública

Coordinadores: María José Sánchez (EASP) y José Juan Jiménez Moleón (UGR)

Gastroenterología y endocrinología

Coordinadores: Beatriz García Fontana (Hospital Clínico San Cecilio) y Eduardo Redondo Cerezo (Hospital Virgen de las Nieves)

Oncología II (11:00 a 13:00)

Coordinadores: Encarnación González Flores (Hospital Virgen de las Nieves) y Francisco O'Valle Ravassa (UGR)

11:30 -14:00

Sesión de pósteres: Enfermedades raras, Epidemiología y salud pública, Gastroenterología y endocrinología, Enfermedades respiratorias y cardiovasculares, Prestación de servicios y apoyo a la investigación.

15:00 – 17:30

SESIONES PARALELAS.

Enfermedades respiratorias y cardiovasculares

Coordinadores: Mario Delgado Mora (IPBLN-CSIC) y Juan Jiménez Jáimez (Hospital Virgen de las Nieves)

Prestación de servicios y apoyo a la investigación

Coordinadores: Juan David Rejón García (Biobanco del SSPA), Purificación Catalina Carmona (Biobanco del SSPA) y Paloma Muñoz de Rueda (ibs.GRANADA)

Inteligencia Artificial y Biotecnología en Biomedicina

Coordinadores: José Luis Martín Rodríguez (Hospital Clínico San Cecilio) y Francisca Vicente (Fundación Medina)

17:30 – 18:30

Conferencia plenaria de clausura.

Impartida por Francisco Herrera, catedrático de Ciencias de la Computación e Inteligencia Artificial UGR y director del Instituto Interuniversitario Andaluz en Data Science and Computational Intelligence.

PONENCIAS

1. Asociación de la microbiota intestinal infantil con la motricidad fina
2. El neuropéptido cortistatina: una molécula clave regulando la neuroinflamación y la alteración de la barrera hematoencefálica durante los infartos cerebrales
3. Memoria de reconocimiento gustativa: un modelo para el estudio de los circuitos cerebrales responsables de la conducta alimentaria en roedores
4. Creación y validación de un modelo predictivo de mortalidad en el primoingreso de pacientes afectados de ictus isquémico no candidato a reperfusión
5. Neuroinflamación y dolor en el modelo de artritis reumatoide inducida por colágeno
6. Cortistatina: Nuevas estrategias en el tratamiento de enfermedades neuroinmunológicas
7. Identificación de elementos Alu en el genoma de individuos con acúfenos
8. En busca de nuevas dianas terapéuticas: receptores SIGMA-1 y modulación del dolor
9. Caracterización del neuropéptido cortistatina en el envejecimiento fisiológico del sistema neuroinmunitario

ASOCIACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL INFANTIL CON LA MOTRICIDAD FINA

Acuña, I.; Cerdó, T.; Ruiz, A.; Torres-Espínola, F.J.; López-Moreno, A.; Aguilera, M.; Suárez, A.; Campoy, C.

RESUMEN: Durante los primeros años de vida, la colonización intestinal y el desarrollo cerebral coexisten con posibles mecanismos de intercomunicación que afectan el comportamiento. Utilizamos la secuenciación del gen rRNA 16S para examinar las asociaciones entre la microbiota intestinal y los resultados del desarrollo neurológico evaluados por las Escalas de Bayley de Desarrollo Infantil III en 71 bebés sanos, nacidos a término, a los 18 meses de edad. Nuestra hipótesis suponía que los niños diferirían en la diversidad microbiana intestinal, los enterotipos obtenidos mediante el análisis de mezclas multinomiales de Dirichlet y organismos específicos basados en sus características de comportamiento. En niños dicotomizados en grupos por encima y por debajo de la mediana por desempeño del comportamiento, la beta-diversidad del weighted UniFrac mostró diferencias significativas en la motricidad fina (FM). La clusterización mediante el modelo Dirichlet Multinomial Mixture (DMM) identificó dos enterotipos fuertemente asociados con los resultados de FM. Al controlar el índice de masa corporal (IMC) materno pregestacional y la lactancia materna hasta los 3 meses, el examen de los organismos distintivos en los grupos de FM mostró que *Turicibacter* y *Parabacteroides* eran muy abundantes en el grupo de FM por debajo de la mediana, mientras que *Collinsella*, *Coprococcus*, *Enterococcus*, *Fusobacterium*, *Holdemanella*, *Propionibacterium*, *Roseburia*, *Veillonella*, un género no asignado dentro de *Veillonellaceae* y, curiosamente, los probióticos *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* fueron más abundantes en el grupo de FM por encima de la mediana. Nuestros resultados sugieren una asociación entre enterotipos y géneros específicos con la actividad de la FM y pueden representar una oportunidad para las intervenciones probióticas relevantes para el tratamiento de los trastornos motores.

EL NEUROPEPTIDO CORTISTATINA: UNA MOLÉCULA CLAVE REGULANDO LA NEUROINFLAMACIÓN Y LA ALTERACIÓN DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA DURANTE LOS INFARTOS CEREBRALES

Castillo-González J (1), Ubago-Rodríguez A (1), Caro M (1), Forte-Lago I (1), Serrano-Martínez I (1), Buscemi L (2,3), Hernández-Cortés P (4), Hirt L (2,3), González-Rey E (1)

1. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra (IPBLN-CSIC), Granada, España 2. Hospital Universitario de Lausanne, Lausanne, Suiza 3. Universidad de Lausanne, Lausanne, Suiza 4. Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España

RESUMEN: Los infartos cerebrales o ictus ocurren cuando se ocluye de forma permanente o transitoria una arteria cerebral, interrumpiendo el flujo de oxígeno y nutrientes a una parte del cerebro, lo que provoca la muerte neuronal de dicha zona, así como las consecuentes secuelas motoras y cognitivas. A pesar de los numerosos avances en investigación básica y clínica, el fallo terapéutico sigue siendo aún notorio, y los infartos cerebrales siguen siendo desgraciadamente la segunda causa de muerte a nivel mundial. Numerosos estudios sugieren que, para un mejor tratamiento de los ictus, las investigaciones deberían focalizarse en estudiar mediadores endógenos de tipo neuroprotector que modularan de forma global la respuesta inmunitaria, en vez de intentar bloquear individualmente mecanismos patogénicos. En este sentido surge el estudio de cortistatina, un neuropéptido ampliamente distribuido en el Sistema Nervioso Central y el Sistema Inmunitario que presenta propiedades antiinflamatorias, neuroprotectoras e inmunomoduladoras en diferentes modelos de enfermedades neuroinflamatorias, características que potencialmente lo convierten en una atractiva diana endógena y en una novedosa posible terapia para el tratamiento de los infartos. Por tanto, investigamos el papel endógeno de cortistatina en los procesos de neuroinflamación y desregulación inmunológica asociados al infarto, así como su posible aplicación terapéutica. Para ello, realizamos un modelo preclínico de ictus llamado MCAO (del inglés middle cerebral artery occlusion), en el que ocluimos la arteria cerebral media durante 30' en ratones controles (wild-type, WT) y deficientes en CST (CST^{-/-}) de 12 semanas ("jóvenes") y de 6 meses ("envejecidos"). Nuestros resultados preliminares muestran una mayor susceptibilidad al infarto en ratones CST^{-/-} tanto jóvenes como envejecidos, ya que estos presentaron peores secuelas físicas a 48h (un grado clínico más alto), lesiones neuronales más extendidas y una respuesta astrocítica y microglial mucho más exacerbada. Además, descubrimos que los ratones CST^{-/-} mostraban una disfunción en la barrera hematoencefálica (BH) probablemente relacionada con esta mayor susceptibilidad y peor pronóstico, tal y como se muestra en un modelo de BH con células endoteliales WT y CST^{-/-}, donde la BH deficiente en CST mostraba una mayor permeabilidad y una alteración o reducción de la expresión de las moléculas de unión tight/adherens junctions, tras someterlas a condiciones similares a las del infarto cerebral (deprivación de glucosa y/o oxígeno). Por otro lado, demostramos que la administración exógena de CST podía restaurar los niveles basales de permeabilidad y podía revertir las alteraciones ocurridas en las moléculas de unión tras condiciones isquémicas. En conjunto, nuestros resultados destacan la relevancia de CST endógena modulando los eventos de neurodegeneración y neuroinflamación asociados al daño isquémico y su papel clave en la viabilidad estructural y funcional de la BH. Asimismo, nuestras conclusiones evidencian que recuperar los niveles de CST, a través de su administración exógena, podría ser una novedosa y multifuncional estrategia terapéutica para el tratamiento de los infartos cerebrales.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos SAF2017-85602-R y PID2020-119638RB-I00 a EG-R financiados por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FEDER Una manera de hacer Europa; por la Ayuda FPU17/02616 a JC-G financiada por MCIN/AEI y por FSE invierte en tu futuro; y por European Molecular Biology Organization (EMBO short-term fellowship 8942 a JC-G)

MEMORIA DE RECONOCIMIENTO GUSTATIVA: UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS CIRCUITOS CEREBRALES RESPONSABLES DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA EN ROEDORES

Gallo, M.

RESUMEN: La modalidad gustativa representa un modelo idóneo para estudiar la respuesta a la novedad en roedores ya que la neofobia gustativa, consistente en la reducción del consumo de bebidas o comestibles novedosas potencialmente dañinas, representa un mecanismo de defensa conservado en la filogenia. La ausencia de consecuencias gastrointestinales aversivas elimina dicha respuesta neofóbica incrementando el consumo del sabor en ocasiones posteriores gracias a un proceso de aprendizaje denominado habituación de la neofobia. Dicho proceso representa una oportunidad privilegiada para estudiar los circuitos cerebrales asociados no solo a la memoria de reconocimiento sino también a los cambios emocionales relacionados con la aceptación. La simplicidad del modelo comportamental y el empleo de la modalidad sensorial gustativa que es funcional desde la etapa prenatal hasta edades avanzadas lo hacen especialmente apropiado para aplicar una aproximación de desarrollo. De hecho, la relación entre reactividad emocional y conductas arriesgadas varía entre los individuos dependiendo de predisposiciones previas, experiencia prenatal e infantil así como de experiencias positivas o negativas durante la adolescencia, fase del desarrollo que se caracteriza por una peculiar combinación de búsqueda de la novedad y reactividad emocional exacerbadas. Ello determina preferencias gustativas que perduran durante la vida adulta y la senescencia condicionando la dieta a lo largo de la vida. A su vez, la dieta determina la función cerebral alterando procesos cognitivos y afectivos. Empleando marcadores del metabolismo oxidativo y la actividad neural nuestro equipo de investigación ha identificado un circuito cerebral responsable de la habituación de la neofobia que incluye tálamo, núcleo accumbens, amígdala, corteza perirhinal, corteza insular, corteza piriforme y corteza prefrontal medial. Se trata de áreas que forman parte tanto del circuito de la memoria de reconocimiento con otras modalidades sensoriales como de los circuitos emocionales y de recompensa. Por otro lado, la aplicación de lesiones neurotóxicas del hipocampo ha permitido estudiar su papel en la dependencia contextual de este tipo de memoria gustativa. Asimismo, gracias a la intervención farmacológica con agonistas y antagonistas dopaminérgicos en combinación con intervenciones farmacogenéticas mediante la aplicación de DREADDs selectivos se ha identificado un circuito dopaminérgico accumbens-amígdala crucial para que se produzca la habituación de la neofobia. Dichos circuitos han sido o están siendo estudiados en distintas fases del desarrollo con especial interés en la adolescencia y el envejecimiento, así como en las modificaciones epigenéticas que sufren como consecuencia de intervenciones tempranas. Además, otra línea de investigación se ha dirigido a explorar el efecto de la aportación de colina en la dieta sobre los procesos de aprendizaje y memoria. El conocimiento de los mecanismos cerebrales responsables del control de la conducta de ingestión es crucial para mejorar la intervención terapéutica sobre los trastornos de la conducta alimentaria, el consumo de alcohol o los efectos de la obesidad maternal, cuestiones que son de interés para nuestro grupo de investigación.

Financiado por PSI2017-86381-P (MICINN, España), PID2020-114269GB-I00 (MICIU, España), B-SEJ-514-UGR20 (Junta de Andalucía, España), 2020I049 (Ministerio de Sanidad, España).

CREACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN MODELO PREDICTIVO DE MORTALIDAD EN EL PRIMOINGRESO DE PACIENTES AFECTOS DE ICTUS ISQUÉMICO NO CANDIDATO A REPERFUSIÓN

Juan Manuel García Torrecillas; María del Carmen Lea Pereira; Luis Téllez Ramírez

RESUMEN: El ictus isquémico no susceptible de recibir tratamiento reperfusor -INR- (trombolítico o endovascular) constituye un elevado porcentaje de los procesos ictales. Es la segunda causa de mortalidad en nuestro país, la primera en mujeres. Es necesaria una estrategia auxiliar el código ictus, para aquellos cuadros que no cumplen todas las condiciones para su activación. Nuestro objetivo principal es elaborar un modelo predictivo de mortalidad y score de riesgo en el primoingreso que permita optimizar la atención y realizar medicina personalizada. Como objetivos secundarios, tenemos validar internamente mediante bootstrapping y métodos de retención (hold-out), estimando el rendimiento a través de estas dos metodologías; y validar externamente el modelo sobre una base de datos de pacientes incluidos en los tres años siguientes. Como fuente de información se usó un Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD), periodo 2008-2012 con todos los episodios de hospitalización por INR. El modelo predictivo se elaboró mediante métodos de regresión logística robusta, evaluando su capacidad discriminativa mediante el estadístico C de Harrell y su ajuste-calibración mediante el test de Hosmer-Lemeshow. Se realizó una doble validación interna, mediante remuestreo con 1000 reemplazamientos y según metodología "hold-out". Para ésta última se dividió aleatoriamente en una muestra de training (80%) y otra de test del 20%, creándose el modelo logístico para mortalidad y estableciéndose su capacidad de discriminación mediante el área bajo la curva (AUC). Dicho modelo fue aplicado a la cohorte Test y finalmente ambos modelos fueron comparados a través de sus AUC. Se siguió el criterio de que diferencias iguales o inferiores a la décima permitirían establecer una equipotencia entre modelos. Se validó externamente el modelo sobre la misma fuente en un periodo cronológico posterior (2013-2015). Finalmente se elaboró un gráfico para correlacionar puntaje en la regresión con riesgo de mortalidad con el riesgo de mortalidad de modo gráfico. El análisis multivariante mostró asociación ajustada para mortalidad para la Edad (OR 1,07, IC95% 1,06-1,07), Sexo mujer (OR 1,21, IC95% 1,16-1,26), Reingreso (OR 1,97, IC95% 1,84-2,11), Cardiopatía isquémica (OR 1,33, IC95% 1,23-1,44), HTA (OR 0,75, IC95% 0,68-0,74), Diabetes (OR 1,09, IC95% 1,05-1,14), Fibrilación (OR 1,53, IC95% 1,47-1,59), Dislipemia (OR 0,64, IC95% 0,61-0,67), Insuficiencia Cardíaca (OR 1,48, IC95% 1,40-1,58) e infarto/estenosis basilar (OR 2,83, IC95% 2,28-3,49). Mostró un AUC de 0.741 (IC95%:0.736-0.745) y buena calibración visual por deciles de riesgo (Figs. 1-3). En cuanto a la validación interna, el modelo elaborado por bootstrapping retuvo todas las variables a excepción de diabetes y localización-basilar, manteniendo un AUC de 0.754 (IC95%: 0.749-0.760). En la validación hold-out, el AUC en training fue de 0.742 (0.737-0.747); el mismo modelo sobre la cohorte de test del 20% proporcionó un AUC de 0.736 (0.727-0.746) (Fig. 2). Respecto de la validación externa se obtuvo un AUC discretamente superior (0.754, IC95%: 0.749-0.760) pese a la extracción de las dos variables citadas. Además, se pudo establecer un score de riesgo graficado para una interpretación visual rápida a pie de cama de la probabilidad de fallecer los pacientes afectados (Fig. 4). A la vista de esos resultados se concluye que es factible la elaboración de un modelo logístico que permita estimar el riesgo de fallecer por ictus durante el primoingreso. Este modelo podría tener repercusiones en la optimización de la calidad y la gestión del proceso ictal. Además, el modelo obtuvo una capacidad de discriminación moderada-alta y puede considerarse validado internamente mediante el método de hold-out y el de remuestreo o bootstrapping. Asimismo, se consiguió un incremento del AUC de 0.013 Unidades con disminución en 2 variables respecto del modelo original, pudiendo informarse de una correcta validación externa del mismo en un formato más parsimonioso.

NEUROINFLAMACIÓN Y DOLOR EN EL MODELO DE ARTRITIS REUMATOIDE INDUCIDA POR COLÁGENO

Carlos Gómez-Navas, Miriam Santos-Caballero, María Del Carmen Ruiz-Cantero, Miguel Ángel Huerta, José Manuel Baeyens, Enrique José Cobos, Francisco Rafael Nieto.

RESUMEN: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica autoinmune que afecta al 0,5-1 % de la población que se caracteriza por inflamación y dolor en las articulaciones, siendo una de las causas más habituales de dolor crónico no maligno. Los tratamientos actuales con fármacos modificadores de la enfermedad (FAMEs), no logran controlar el dolor producido por la AR de forma óptima, incluso aunque logren controlar la inflamación. Esto sugiere que, además de inflamación periférica, deben existir mecanismos adicionales (que no son inhibidos por los FAMEs), que contribuyen al dolor. Se ha demostrado que existe un proceso neuroinflamatorio a nivel central, tanto en animales como en pacientes, que contribuye al dolor en la AR. Sin embargo, se desconoce si a nivel del sistema nervioso periférico también se produce un proceso neuroinflamatorio. Nuestro objetivo fue evaluar las alteraciones sensoriales que se generan en el modelo de AR inducida por colágeno (Collagen-induced arthritis, CIA) en rata, y comprobar si existe un proceso neuroinflamatorio a nivel del ganglio de la raíz dorsal (DRG) en este modelo. Para ello, ratas hembra Wistar fueron inmunizadas con una inyección intradérmica de colágeno bovino. Las ratas controles recibieron salino intradérmico. Se evaluaron las repuestas del animal tras la estimulación plantar con filamentos de von Frey (alodinia mecánica) y con acetona (alodinia al frío). La inflamación de la pata se midió con un calibre y una escala cualitativa. Las diferencias entre las medias de los grupos experimentales se determinaron mediante una ANOVA o una t de student. A los 16 días tras la inmunización se extrajeron los DRGs L4-L5 que inervan el tobillo y la pata trasera. Tras su inclusión en OCT y corte con criostato se realizó el estudio inmunohistoquímico utilizando los anticuerpos: NeuN (marcador neuronal), GFAP (células satélites activas en DRG) e Iba1 (macrófagos). Las ratas con CIA desarrollaron alodinia mecánica 8 días después de la inmunización, mientras que la alodinia al frío se desarrolló más tarde, coincidiendo con el comienzo de la inflamación periférica (día 12). Las ratas CIA mostraron un incremento significativo en el número de macrófagos y en la activación de células satélite en el DRG. Las ratas controles no mostraron evidencia alguna de alteración sensorial o inmunohistoquímica. Nuestras conclusiones son que el modelo CIA es un modelo adecuado para estudiar la neuroinflamación periférica y las alteraciones sensoriales asociadas a la AR.

Agradecimientos: Junta de Andalucía (grupo CTS-109) y Proyecto P20_00132, y Proyecto Intramural IN-TRAIBS-2020-09 IBS.Granada.

CORTISTATINA: NUEVAS ESTRATEGIAS EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES NEUROINMUNOLÓGICAS

Elena González-Rey

Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra (IPBLN-CSIC), Granada, España

RESUMEN: Las enfermedades neuroinmunológicas incluyen un grupo de desórdenes en los que se producen alteraciones tanto en el sistema inmunitario como neuroendocrino. Enfermedades clásicamente reconocidas como neurológicas (Parkinson, Alzheimer, Huntington, etc) se estudian actualmente prestando especial atención a las alteraciones de la respuesta inmunitaria tanto generada en el sistema nervioso (mediante la disfunción del nicho glial) como en el sistema inmunológico en periferia. De hecho, aunque diferentes mecanismos patológicos afectan a estas enfermedades, diferentes evidencias indican que, junto con la neurodegeneración subyacente a las mismas, existe también una activación inmunitaria crónica común en todas ellas. El efecto dual de la respuesta inflamatoria en enfermedades neurodegenerativas es un campo de alta relevancia en la investigación actual. En nuestro grupo, hemos demostrado que algunos neuropéptidos endógenos, que participan en la interacción bidireccional y en las funciones homeostáticas de los sistemas neuroendocrino e inmunológico, se producen durante la respuesta inflamatoria en curso. Entre ellos, cortistatina, un neuropéptido cíclico relacionado con somatostatina, ha sido ampliamente estudiado por nuestro grupo. Cortistatina se produce por interneuronas corticales y del hipocampo, células gliales, y también por macrófagos y células T en respuesta a la estimulación inflamatoria e inmunológica. A pesar de que comparte muchas funciones con somatostatina, especialmente en lo que respecta a la regulación de la secreción de hormonas y las actividades neuronales, Cortistatina ejerce funciones únicas en los sistemas nervioso e inmunológico. Nuestro grupo ha descrito el efecto anti-inflamatorio de Cortistatina y su papel terapéutico en diferentes enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Recientemente, también hemos descubierto su papel beneficioso en diferentes condiciones neurodegenerativas (esclerosis múltiple, envejecimiento patológico, enfermedad de Parkinson, infarto cerebral). En estos escenarios, hemos observado la relevancia tanto del papel endógeno como terapéutico de cortistatina, caracterizado por su efecto en la desactivación de las células gliales, la reducción de procesos neuroinflamatorios y la inducción activa de programas de reparación y neuroprotección. Nuestros hallazgos demuestran que cortistatina juega un papel fundamental en el balance de las respuestas inmunitarias en la salud y la enfermedad e identifica a cortistatina como un factor clave en la comunicación bidireccional que existe entre los sistemas neuroendocrino e inmunológico. Además, nuestros resultados apoyan a cortistatina como un novedoso tratamiento terapéutico multimodal con un enfoque novedoso para tratar enfermedades con componentes autoinmunitarios y/o inflamatorios. Por otra parte, señalamos su potencial como un nuevo biomarcador de enfermedades neurodegenerativas con un componente inmunológico. Finalmente, estos estudios se incluyen en una línea de investigación que pretende desarrollar enfoques terapéuticos innovadores contra enfermedades neurodegenerativas crónicas centradas en esta intercomunicación inmunitaria con el cerebro.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos SAF2017-85602-R y PID2020-119638RB-I00 a EG-R financiados por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FEDER Una manera de hacer Europa

IDENTIFICACIÓN DE ELEMENTOS ALU EN EL GENOMA DE INDIVIDUOS CON ACÚFENOS

Pablo J. Martinez-Rodriguez, Álvaro Gallego-Martinez, Christopher Cederroth, Jose A Lopez-Escamez

RESUMEN: Los acúfenos son una condición heterogénea asociada con trastornos audiológicos y mentales. Los acúfenos crónicos y severos se reportan en el 1% de la población y muestra una heredabilidad relevante, según estudios de agregación familiar, de adopción y de gemelos. Se desconoce la contribución genética en los acúfenos graves ya que los estudios genómicos extensos incluyen individuos con acúfenos autoinformados y gran heterogeneidad en el fenotipo. Aunque se conoce que la importancia genética de elementos transponibles es alta, nunca se ha evaluado la contribución de las secuencias Alu en los acúfenos. Estas secuencias Alu forman parte de los SINEs, que son elementos transponibles que evolucionaron a partir de genes de ARN y destacan por ser específicas de primates. Se ha extraído ADN de sangre total de 97 individuos con acúfenos seleccionados de una cohorte sueca y se han comparado con 980 controles de dicha población para comparar la frecuencia de las secuencias Alu. Para investigar la contribución de variantes raras a la heredabilidad de rasgos clínicos complejos se ha utilizado la estrategia de fenotipo extremo. Para ello hemos utilizado la herramienta bioinformática MELT, que anota y genotipa inserciones de elementos móviles en el genoma. Hemos encontrado asociación significativa ($OR = 5,17 (0,82-24,65)$, $p = 0,0399$) entre una secuencia Alu (tipo AluYa) localizada en el gen HCN1 (figura 1), que codifica el canal 1 cíclico de sodio/potasio activado por hiperpolarización, con el fenotipo extremo de acúfenos. Este gen se ha relacionado con trastornos neurológicos ya que la proteína es un canal catiónico esencial en neuronas. Además, el gen se expresa específicamente en las neuronas principales del núcleo coclear dorsal, asociándose con la resistencia a acúfenos.

Financiación: H2020 Gender-Net-Plus GNP-182

EN BUSCA DE NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS: RECEPTORES SIGMA-1 Y MODULACIÓN DEL DOLOR

M. Carmen Ruiz-Cantero, Elsa Cortés-Montero, Aakanksha Jain, Ángeles Montilla-García, Inmaculada Bravo-Caparrós, Jaehoon Shim, Pilar Sánchez-Blázquez, Clifford J. Woolf, José M. Baeyens, Enrique J. Cobos

RESUMEN: La sensibilización periférica es el aumento de la capacidad de respuesta de las neuronas nociceptivas periféricas. Esta contribuye al dolor patológico, y es producida por algógenos químicos como la prostaglandina E2 (PGE2), el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF). Estos sensibilizadores periféricos actúan sobre los nociceptores C para producir hiperalgesia, aunque mientras que la PGE2 y NGF sensibilizan los nociceptores C peptidérgicos (TRPV1+), el GDNF sensibiliza nociceptores C no peptidérgicos (IB4+). El receptor sigma-1 es una chaperona sensible al Ca²⁺ presente en las neuronas sensoriales periféricas, el cual se une a TRPV1 y a los receptores opioides μ (MOR), aunque la repercusión funcional de estas interacciones es desconocida. En este trabajo mostramos que la administración de los antagonistas sigma-1 S1RA y BD-1063, en ratones, revirtió la hiperalgesia mecánica inducida por PGE2 y NGF, pero no la hipersensibilidad mecánica inducida por GDNF. El efecto antihiperalgésico del antagonismo sigma-1 fue abolido por el agonista sigma-1 PRE-084, así como por el antagonista opioide periférico naloxona metiodida y el antagonista selectivo MOR ciprodone, pero no por el antagonista κ nor-binaltorpimina ni por el antagonista δ naltrindol. Estos resultados indican que el efecto antihiperalgésico de los antagonistas sigma-1 es mediado por la activación MOR periférica. Mediante ensayos inmunohistoquímicos, determinamos la presencia del agonista endógeno MOR endomorfina-2 (END2) en los nociceptores TRPV1+ pero no en los nociceptores IB4+. Dicha presencia fue confirmada usando el bisturí molecular resiniferatoxina, que eliminó selectivamente las neuronas TRPV1+ y con ello el marcaje de END2. Además, la administración de un anticuerpo frente a END2 en la pata sensibilizada revirtió el efecto antihiperalgésico inducido por los antagonistas sigma-1, indicando que la acción de este opioide endógeno es esencial para el efecto antihiperalgésico de los antagonistas sigma-1. Usando proteínas recombinantes, mostramos que el antagonista sigma-1 S1RA disocia al receptor sigma-1 del extremo C-terminal del TRPV1 e incrementa su unión al extremo C-terminal de MOR. En otras palabras, el antagonismo sigma-1 mueve a los receptores sigma-1 desde el TRPV1 a MOR como parte de su mecanismo de modulación opioide. Por lo tanto, el receptor sigma-1 podría participar en la comunicación entre TRPV1 y MOR. En cultivos de neuronas de la raíz dorsal (DRG, por sus siglas en inglés), PGE2 incrementó el flujo de calcio inducido por capsaicina, el agonista prototipo TRPV1. Este incremento en el flujo de calcio fue revertido por S1RA de una manera sensible al antagonista opioide naloxona, lo que concuerda con los efectos dependientes de la activación opioide del antagonismo sigma-1 observados in vivo. En resumen, nuestros resultados sugieren que el antagonismo sigma-1 disminuye la sensibilización periférica mediante el incremento del tono opioide endógeno en las neuronas C peptidérgicas, que producen END2, mientras que no altera la sensibilización de los nociceptores C no peptidérgicos.

Agradecimientos: Agencia Estatal de Investigación (10.13039/501100011033 - SAF2016-80540R y FPU16/03213), Universidad de Granada (PPJIB2019.11), Junta de Andalucía (grupo CTS 109) y fondos FEDER.

CARACTERIZACIÓN DEL NEUROPEPTIDO CORTISTATINA EN EL ENVEJECIMIENTO FISIOLÓGICO DEL SISTEMA NEUROINMUNITARIO

Serrano-Martínez I, Castillo-González J, Caro M, Forte-Lago I, González-Rey E

Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra (IPBLN-CSIC), Granada, España

RESUMEN: El envejecimiento es un proceso universal, inevitable y progresivo, en el que se va produciendo el deterioro de los diferentes sistemas que forman parte del organismo y se va incrementando el riesgo de sufrir enfermedades. Actualmente la esperanza de vida ha experimentado un gran aumento, se espera que en el año 2050 más del 20% de la población europea supere los 65 años de edad. Entre las principales consecuencias del envejecimiento se encuentran alteraciones del sistema inmunitario (SI) y del sistema nervioso central (SNC). Durante el envejecimiento el SI puede interferir en las funciones del cerebro, mientras que el SNC también puede modular la respuesta inmunitaria, además ambos sistemas pueden comunicarse de manera bidireccional. Se considera que el envejecimiento es el principal factor de riesgo de enfermedades degenerativas, caracterizadas por una neuroinflamación exacerbada y activación glial desregulada. Resulta por tanto de vital importancia la búsqueda de agentes endógenos que puedan regular la comunicación entre el SI y el SNC durante el envejecimiento. En este sentido, hemos decidido estudiar el papel endógeno de Cortistatina (CST), un neuropéptido con efectos inmunomoduladores y neuroprotectores que es expresado tanto por células gliales como por células del sistema inmunitario periférico. Estudios previos de nuestro grupo han mostrado que la deficiencia en CST da lugar a un perfil proinflamatorio en la respuesta inmunitaria periférica. Además, la deficiencia en CST también se asocia con una mayor susceptibilidad a modelos preclínicos de enfermedades neurodegenerativas, como el Parkinson o la esclerosis múltiple desmielinizante. En esta misma línea, hemos observado una disminución en los niveles de CST en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Huntington, y en enfermedades asociadas al envejecimiento prematuro del SNC, como la enfermedad de Cushing o la epilepsia. En base a estos datos previos, decidimos estudiar el papel de CST en la respuesta neuroinmunitaria en animales envejecidos. De este modo, hemos trabajado con ratones deficientes en CST de diferentes edades, y en ellos hemos observado diferencias patentes a partir de los 6 meses de edad en comparación con los correspondientes animales con niveles normales del neuropéptido: una mayor reducción en el número de neuronas en la corteza cerebral, mayor astrogliosis y microgliosis, y una disminución más acentuada de oligodendrocitos en el cuerpo caloso. En concreto, análisis morfométricos muestran que la deficiencia en CST da lugar a microglía activada en forma ameboides, con pérdida de ramificaciones y engrosamiento del soma celular al compararla con microglía de ratones WT naïve de la misma edad. En relación con estos datos, análisis moleculares del cerebro de ratones deficientes en CST muestran mayores niveles de expresión de mediadores proinflamatorios, al mismo tiempo que presentan menores niveles de expresión de factores tróficos. Por último, hemos aislado células gliales de ratones adultos deficientes en CST, lo que nos ha permitido ver que la falta de CST conduce a un fenotipo activado de estas células gliales, que presentan una respuesta inflamatoria desregulada al ser estimuladas con la endotoxina bacteriana o en condiciones de hipoxia/hipoglucemia. En resumen, CST muestra un gran potencial como factor endógeno en la regulación de procesos de neuroinflamación y neurodegeneración asociados al envejecimiento. Además, la reducción en los niveles de CST o su deficiencia estarían asociados a fenotipos de envejecimiento prematuro y/o exacerbado, afectando de forma específica a la participación de células gliales en dichos fenotipos.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos SAF2017-85602-R y PID2020-119638RB-I00 a EG-R financiados por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FEDER Una manera de hacer Europa; y por la Ayuda FPI: PRE2018-084824 a ISM financiada por MCIN/AEI.

PONENCIAS

1. Desarrollo y caracterización de un modelo de cáncer de mama triple negativo resistente a taxanos y enriquecido en células madre cancerígenas
2. Combinación de β -lapachona y hidroxitirisol como estrategia terapéutica contra el cáncer de mama triple negativo
3. Desvelando una nueva fundición inmunomoduladora del Nidógeno 1 en el modelo de melanoma murino B16F1
4. Generación de un modelo de producción de plaquetas modificadas genéticamente para estudiar la transferencia de ARNm de KRAS G12D a diferentes líneas celulares
5. Las proteínas del grupo Polycomb regulan la plasticidad celular y la metastasis en cáncer de pulmón
6. Nuevos biomarcadores genómicos en cáncer colorrectal
7. El paralelismo entre la evolución de un tumor primario y su microambiente
8. Nueva estrategia terapéutica para evitar la resistencia a la quimioterapia asociada a la función mitocondrial
9. Biopsia líquida para el análisis de las alteraciones del HLA-I en pacientes con cáncer: un paso más cerca de la medicina personalizada
10. Proyecto Nemesis: hacia una instalación innovadora para la terapia del cáncer mediante captura de neutrones y producción de radioisótopos para medicina nuclear
11. Influencia de la inhibición de PARP1 en el proceso de migración celular y en la respuesta a radioterapia en cáncer de páncreas
12. Evaluación del efecto antitumoral de la tigeciclina en un modelo experimental de cáncer colorrectal asociado a colitis: impacto en la composición de la microbiota intestinal
13. Caracterización del patrón de glicosación en la proteína de fusión Fc terapéutica Ziv-aflibercept mediante análisis del mapa péptido obtenido por LC-MS/MS(ORBITRAP)
14. Resistencia cruzada a los tratamientos de segunda línea Apalutamida y Docetaxel en modelos celulares de cáncer de próstata resistente a la castración
15. Evaluación de la funcionalidad de nivolumab mediante su unión a su diana terapéutica (PD-1) tras su exposición a estrés ambiental por temperatura y luz
16. Sobreexpresión de la oncoproteína IMP3 en neoplasias como biomarcador de mal pronóstico

DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO RESISTENTE A TAXANOS Y ENRIQUECIDO EN CÉLULAS MADRE CANCERÍGENAS

José L. Blaya-Cánovas, Tamara Gómez-Pérez, Araceli López-Tejada, Jesús Calahorra, Carmen Griñan-Lison, Alba Navarro-Ocón, Francisca E. Cara-Lupiañez, Juan Antonio Marchal, Candela Cives-Lozada, Jose J. G. Marin, Sergio Granados-Principal

RESUMEN: El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es la forma más agresiva de cáncer de mama debido a su gran capacidad metastásica y a sus características de pluripotencia. A pesar de una respuesta inicial a la quimioterapia, un número significativo de pacientes desarrolla una resistencia adquirida, caracterizada por el aumento del número de células madre cancerosas (CSC), lo que reduce drásticamente su supervivencia. Con el fin de obtener un modelo preclínico adecuado para estudiar la quimiorresistencia, hemos desarrollado una línea celular de TNBC resistente al docetaxel (SUM159-R) mediante la exposición de las células SUM159 a ciclos de tratamiento-recuperación con concentraciones crecientes de docetaxel desde 10 nM a 25 nM y luego a 50 nM. La quimiorresistencia de SUM159-R, en comparación con las células SUM159 parentales, se caracterizó mediante la determinación de los valores IC50 con WST-1, TaqMan Low Density Arrays de genes implicados en la resistencia a fármacos, apoptosis y supervivencia celular. La expresión de los genes significativamente alterados se validó además mediante qPCR. El enriquecimiento en CSCs se evaluó mediante el análisis de ALDH1, side population, eficiencia de formación de mamosferas (MSFE) y formación de colonias en agar. Nuestros resultados muestran que SUM159-R es 100 veces más resistente a docetaxel (IC50: 277 nM) que las células parentales (IC50: 3 nM). Esta resistencia se correlacionó con el aumento de la expresión de genes ABCB1, ABCG2, TYMS y BIRC5, y la disminución de FAS. Además, se observó un aumento de la población ADLH1+ (3,8%) en comparación con las células parentales (0,5%), de side population (SUM159-R: 2,8%; SUM159: 0,8%), de la eficiencia de formación de mamosferas primarias (SUM159-R: 2,5%; SUM159: 1%) y secundarias (SUM159-R: 5%; SUM159: 0,8%), así como del número de colonias (SUM159-R: 115; SUM159: 7). En conclusión, hemos establecido una línea celular de TNBC con resistencia adquirida al taxano docetaxel que presenta un alto enriquecimiento en CSCs, constituyendo así un modelo preclínico excepcional para investigar la quimiorresistencia y la agresividad de la enfermedad mamaria residual.

COMBINACIÓN DE β -LAPACHONA Y HIDROXITIRISOL COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CONTRA EL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

Jesús Calahorra, José L. Blaya-Cánovas, Araceli López-Tejada, Carmen Griñan-Lison, Alba Navarro-Ocón, Francisca E. Cara-Lupiañez, Juan Antonio Marchal, Sergio Granados-Principal

RESUMEN: La β -lapachona (β -LP) es una o-naftoquinona natural que se reduce específicamente por la enzima NQO1, sobreexpresada en cáncer de mama, generando grandes cantidades de H₂O₂ que desencadena la muerte de las células tumorales, y conduce a la hiperactivación de PARP como principal mecanismo de resistencia a β -LP. El hidroxitiroso (HT) es un compuesto fenólico del aceite de oliva con propiedades anticancerígenas que tiene la capacidad de inhibir PARP-1. Con estas premisas, en este estudio planteamos que la combinación de ambos compuestos podría resultar un cóctel eficaz contra las células de cáncer de mama triple negativo (CMTN), previniendo así posibles resistencias. Para ello determinamos la IC₅₀ de β -LP tras 48h de tratamiento mediante WST-1 en monoterapia y combinada con HT 50 y 100 μ M en las líneas de CMTN BT549, MDA-MB-231 y Hs578T. Empleando los valores de IC₅₀ obtenidos para β -LP, estudiamos los efectos de la combinación con HT sobre apoptosis celular mediante el ensayo de Anexina V por citometría de flujo. Finalmente, estudiamos el impacto sobre las células madre cancerígenas (CMC) a través de un ensayo de eficiencia de formación de mamíferos primarios (tratadas con β -LP y HT, y sus combinaciones) y secundarias (en ausencia de tratamiento) durante 72h. Nuestros resultados demuestran que la IC₅₀ de β -LP (0,5 μ M en BT549, y 1,5 μ M en MDA-MB-231 y Hs578T) se ve significativamente reducida en combinación con HT. En las tres líneas celulares estudiadas observamos que, en comparación con la monoterapia, la combinación de ambos compuestos induce de forma más significativa la apoptosis temprana y tardía, así como la inhibición de las esferas secundarias. En conclusión, los efectos antiproliferativos y proapoptóticos observados, junto a la actividad frente a las CMC, sugieren que la combinación de β -LP y HT puede constituir una novedosa alternativa terapéutica frente al CMTN.

DESVELANDO UNA NUEVA FUNCIÓN INMUNOMODULADORA DEL NIDÓGENO 1 EN EL MODELO DE MELANOMA MURINO B16F1

Rita Caracuel-Peramos, Silvia Redondo-García, MD Plaza-Calonge, JC Rodríguez-Manzaneque

RESUMEN: En Europa, la incidencia de melanoma ha aumentado en los últimos años, pero gracias a la concienciación y diagnóstico precoz la lucha contra este tumor ha mejorado. No obstante, en fases avanzadas con metástasis la supervivencia cae hasta el 6%, debido en gran parte a la aparición de recidivas por el desarrollo de resistencias al tratamiento. Dentro del complejo microambiente tumoral es importante destacar la contribución de la matriz extracelular (ECM), que ejerce de andamiaje necesario para la estructura tisular. La ECM está en constante remodelación adaptándose a las respuestas neoplásicas, contribuyendo así a la heterogeneidad tumoral. Las proteasas extracelulares tienen especial protagonismo en esta remodelación de la ECM, concretamente nosotros estudiamos el papel de la proteasa ADAMTS1 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs 1), cuya actividad proteolítica sobre los proteoglicanos regula procesos como la neovascularización, plasticidad y progresión tumoral. Con el objetivo de elucidar el mecanismo de acción de esta proteasa centramos nuestros estudios en uno de sus sustratos, los nidógenos. Los nidógenos son proteínas tri-globulares que participan en el ensamblaje de la membrana basal y regulan la adhesión entre las células y la ECM. Trabajando con el modelo de melanoma murino B16F1, presentamos el impacto de la sobreexpresión de nidógeno 1 (Nid1) en la progresión tumoral. Nuestros resultados muestran que la sobreexpresión de Nid1 en células B16F1 inhibe la progresión tumoral, produciendo tumores más pequeños que las células silvestres. Cuando analizamos el infiltrado inmunitario del tumor mediante citometría de flujo, descubrimos que los tumores que sobreexpresan Nid1 poseen una mayor infiltración de macrófagos (células CD11b+ y F4/80+) y células T (células CD3+). Dado el relevante papel de los macrófagos induciendo un microambiente anti o pro-tumorigénico, procedimos a estudiar in vitro el papel inmunomodulador de Nid1 sobre los macrófagos. Los ensayos mostraron que el medio de células B16F1 que contenía Nid1 promueve la polarización de los macrófagos hacia un estado antitumoral. Este efecto solo ocurre cuando Nid1 está intacto; sin embargo, cuando los macrófagos se trataron con medio B16F1 que contenía los fragmentos de Nid1 protealizados por ADAMTS1, no observamos dicha polarización antitumoral. Los resultados obtenidos muestran que la sobreexpresión de Nid1 presenta similitudes muy relevantes con la ausencia de ADAMTS1 en nuestro modelo de melanoma de ratón, actuando como supresor tumoral. Además, hemos desvelado una nueva función inmunomoduladora del Nid1 intacto que afecta al infiltrado inmunitario del tumor y se correlaciona con el bloqueo del crecimiento tumoral. En experimentos futuros, exploraremos el mecanismo molecular por el cual Nid1 polariza los macrófagos y cómo Nid1 podría afectar la extravasación de las células inmunes hacia el tumor.

GENERACIÓN DE UN MODELO DE PRODUCCIÓN DE PLAQUETAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE PARA ESTUDIAR LA TRANSFERENCIA DE ARNM DE KRAS G12D A DIFERENTES LÍNEAS CELULARES

J Cerón-Hernández, G Martínez-Navajas, C Garrido, P Molina, MJ Serrano, PJ Real

RESUMEN: Las plaquetas son pequeños fragmentos de células enucleadas producidas a partir de grandes células hematopoyéticas llamadas megacariocitos. Tienen un papel decisivo en el proceso de coagulación y estudios recientes han demostrado su papel activo en la tumorigénesis. Recientemente se han descrito mecanismos de comunicación bidireccional entre plaquetas y células tumorales. Por ejemplo, las plaquetas reciben biomoléculas tumorales en un proceso denominado educación y permiten la identificación de subpoblaciones de plaquetas llamadas plaquetas educadas por tumores (TEP). Este fenómeno podría tener papeles relevantes en muchos tipos de cáncer. Además, las plaquetas también son capaces de transferir diferentes ARN a las células tumorales mediante diversos mecanismos (fusión directa, microvesículas, exosomas...). En este estudio, queremos demostrar que diferentes tipos de células pueden capturar ARNm derivados de plaquetas y modificar su comportamiento después de la adquisición de esas biomoléculas. Para probar esta hipótesis, se ha escogido un oncogén bien conocido como es KRAS, que está expresado normalmente en las plaquetas. Se ha generado un modelo in vitro basado en iPSC para producir plaquetas humanas modificadas que llevan una variante mutante de este oncogén (KRAS G12D). Se utilizó un sistema lentiviral para sobreexpresar el oncogén KRAS G12D en una línea iPSC (iKRAS) que es capaz de diferenciarse en megacariocitos y producir plaquetas. La línea celular iKRAS se diferencia en medios definidos específicos siguiendo el protocolo de diferenciación megacariocítica de Moreau et al. (2016). A diferentes tiempos, se midió el estado de diferenciación por citometría de flujo y los niveles de ARNm y proteína de KRAS G12D por qPCR y Western Blot. Es importante destacar que los megacariocitos y las plaquetas generadas a partir de iKRAS expresaron marcadores de superficie CD41 y CD42 (linaje megacariocítico). La expresión del oncogén se mantiene durante la diferenciación al menos cinco veces más alta que la expresión de KRAS wild type. En el futuro utilizaremos estas plaquetas personalizadas para modificar líneas celulares tumorales y no tumorales para evaluar las consecuencias de la expresión de KRAS G12D en ellas.

LAS PROTEÍNAS DEL GRUPO POLYCOMB REGULAN LA PLASTICIDAD CELULAR Y LA METASTASIS EN CÁNCER DE PULMÓN

Amador Gallardo, Aldara Molina, Helena G Asenjo, Lourdes Lopez-Onieva, Juan Carlos Alvarez Perez, Jordi Martorell-Marugan, Francisca E Cara, Mencia Espinosa-Martinez, Pedro Carmona-Saez, Segio Granados-Principal, Pedro P Medina, Antonio Sanchez-Pozo y David Landeira

RESUMEN: La transición reversible entre los estados epitelial y mesenquimal es un aspecto vital en la diseminación de las células de carcinoma y la posterior formación de metástasis. De esta manera caracterizar las bases moleculares de la transición epitelio a mesénquima (EMT) es crucial para encontrar nuevos enfoques terapéuticos que permitan combatir el cáncer. Estudios vanguardistas proponen que los reguladores epigenéticos podrían ser los encargados de conferir a las células cancerígenas la plasticidad necesaria para poder llevar a cabo los cambios dinámicos asociados al EMT. Sin embargo, la mayoría de estos mecanismos moleculares aún quedan por ser caracterizados. Los complejos represivos polycomb (PRCs) están robustamente establecidos como reguladores epigenéticos del desarrollo embrionario y de la diferenciación de células madre pero su papel en cáncer es todavía inconsistente y muchas veces contradictorio. En este trabajo hemos analizado el papel de la proteína EZH2 del complejo represivo Polycomb 2 (PRC2) en células de carcinoma de pulmón. Nuestros resultados demuestran que EZH2 reprime la transcripción de cientos de genes mesenquimales sustentando el mantenimiento de un estado epitelial. Tanto la inhibición química como la modificación genética de EZH2 provoca que las células permanezcan bloqueadas en un estado mesenquimal durante la transición reversible de epitelio a mesénquima. Además, el análisis de muestras de pacientes de cáncer de pulmón y ensayos en ratones muestran que EZH2 es necesario para que se repriman de manera eficiente los genes mesenquimales y se posibilite la colonización tumoral in vivo. En conjunto, este estudio disecciona un nuevo papel PRC2 como un regulador vital en EMT en células de carcinoma. Este descubrimiento tiene un impacto importante en el diseño de terapias basadas en la inhibición de EZH2 para el tratamiento del cáncer en pacientes.

NUEVOS BIOMARCADORES GENÓMICOS EN CÁNCER COLORRECTAL

Encarna González Flores, González-Flores E, Ortiz R, Martínez-González LJ, Antúnez-Rodríguez A, Expósito-Ruiz M, Melguizo C, Caba O, C. Jiménez Luna, Prados J.

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) debe ser considerado como un auténtico problema de salud pública tanto por su incidencia como por su mortalidad. A pesar de los importantes avances en los últimos años y de la mejora en su diagnóstico precoz, entre un 20-25%, presentan enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico y hasta un 50% desarrollan metástasis a lo largo de la evolución de la enfermedad. Por tanto, el diagnóstico precoz así como el desarrollo de estrategias para mejorar la eficacia de la terapia aplicada, es un campo prioritario en la investigación oncológica. En este contexto, el conocimiento cada vez más profundo de la etiopatogenia del CCR y la demostración de que múltiples alteraciones tanto genéticas como epigenéticas son capaces de alterar los mecanismos de control de los procesos de proliferación y apoptosis celular, están dando paso, no sólo al uso de nuevas dianas moleculares, sino a la determinación de nuevos biomarcadores que puedan indicarnos la presencia, la evolución y/o la respuesta al tratamiento de la enfermedad. Entre las moléculas más ampliamente analizadas como biomarcadores de CCR se encuentran la presencia de ARNm en sangre periférica. En este contexto, el ARNm de moléculas relacionadas con el proceso de la angiogénesis han cobrado un gran interés en el CCR, habiéndose testado la sobreexpresión de moléculas como PTGS2 y GUCY2C como marcadores de la enfermedad o de la presencia de metástasis ocultas en pacientes con CCR. En este contexto, nuestro trabajo tiene como objetivo fundamental realizar un estudio de la utilidad de genes intensamente relacionados con el proceso de angiogénesis, fenómeno esencial en el crecimiento y la expansión metastásica de un tumor, como nuevos biomarcadores de fácil detección en sangre periférica o en suero de los pacientes con CCRm. Para ello hemos seleccionado cinco genes, GUCY2C, JAG1, PTGS2, PGF y MMP7, con demostrada relevancia en la angiogénesis y hemos determinado los niveles de ARN circulante tanto en suero como en células mononucleares de sangre periférica en un grupo de 59 pacientes con CCRm enfrentados a un grupo de 47 controles sanos. La presencia de estos marcadores en los fluidos biológicos fue realizada por una tecnología altamente sensible como es la dPCR que permitiría un fácil desarrollo de su aplicación clínica en un corto plazo de tiempo, mientras que el análisis del AUC se utilizó para estimar el valor predictivo de los biomarcadores tanto de forma individual como en combinaciones. Nuestros resultados demostraron que, a través de la utilización de la dPCR, existieron diferencias significativas en los niveles de ARNm de tres genes relacionados con la angiogénesis (PTGS2, GUCY2C y JAG1) en el suero de pacientes con CCRm en relación al suero de controles sanos. El mayor rendimiento en cuanto a la discriminación entre grupos fue observado para el ARNm de PTGS2. Sólo la determinación de ARNm de JAG1 en sangre demostró un valor de discriminación aceptable como biomarcador. En general, el nivel de ARNm circulante de todos los genes en el suero de los pacientes fue significativamente más abundante que el detectado en las células sanguíneas. Por otra parte, la asociación de genes con la intención de buscar una "firma" para la patología estudiada no mostró una mejora significativa de la capacidad discriminatoria en relación a los genes individuales. Curiosamente, la expresión sérica de GUCY2C y GUCY2C/ PTGS2 se correlacionaron significativamente con la respuesta terapéutica. Sin embargo, ninguno de los biomarcadores se correlacionó con la SG o la SLP. En conclusión, nuestros hallazgos sugieren que los genes relacionados con la angiogénesis pueden ser excelentes biomarcadores no invasivos y de fácil determinación para su aplicación clínica. Nuevas investigaciones con estudios más amplios y validaciones externas serán necesarias para determinar la aplicabilidad clínica de estos biomarcadores en CCR.

EL PARALELISMO ENTRE LA EVOLUCIÓN DE UN TUMOR PRIMARIO Y SU MICROAMBIENTE

Pablo Hernández Camarero, Elena López Ruiz, Juan Antonio Marchal Corrales, Macarena Perán Quesada

RESUMEN: Actualmente, está ampliamente documentado que el microambiente alrededor de los tumores sólidos juega un papel muy importante en la progresión del cáncer, su crecimiento, su capacidad invasiva, la aparición de metástasis e incluso en la generación y mantenimiento de las células madre cancerígenas. Aunque la naturaleza y organización del microambiente tumoral pueda parecer caótica e impredecible, se puede apreciar que en realidad es un reflejo preciso de la propia heterogeneidad (tanto a nivel molecular como fenotípico) y organización espacial de las células cancerosas. En efecto, dicho paralelismo entre el tumor y su estroma puede ser observado de forma reiterativa en el tiempo a lo largo de las distintas etapas del desarrollo del tumor primario. Notablemente, la heterogeneidad fenotípica y la distribución espacial de las principales células estromales, como los fibroblastos y los macrófagos, experimenta cambios según el tumor primario progresa en su desarrollo, mostrando una gran correlación con la aparición de las células madre cancerígenas en los bordes de la masa cancerígena en las etapas más avanzadas de progresión tumoral. En consecuencia, entender el orden de organización intrínseco de una masa tumoral y de su microambiente nos puede ser de utilidad en el ámbito clínico. Un ejemplo sería la obtención de biopsias sólidas procedentes de los bordes de la masa tumoral cuyo análisis proporcionaría información realmente representativa del estado de progresión tumoral.

NUEVA ESTRATEGIA TERAPÉUTICA PARA EVITAR LA RESISTENCIA A LA QUIMIOTERAPIA ASOCIADA A LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL

López-Rodríguez, Alba; Fábrega-Puentes, Alejandro; Rodríguez- Santana, César; Martínez-Ruiz, Laura; Florido, Javier; Oliver- Ramírez, Andrés; Escames, Germaine.

RESUMEN: La resistencia oncológica a agentes antineoplásicos se considera una de las mayores causas del fallo clínico en el tratamiento con quimioterapia de pacientes afectados de cáncer. Estas células resistentes pueden causar recidivas y metástasis. A día de hoy, no se ha identificado un mecanismo único, que por sí solo confiera resistencia a todos los fármacos conocidos. Sin embargo, la reducción intracelular de los fármacos antineoplásicos es un mecanismo muy frecuente. El fenotipo de multiresistencia a fármacos (MDR o "multidrug resistance") constituye la mayor causa de fallo en el tratamiento con quimioterapia y se ha asociado con la expresión de una serie de proteínas que incluyen la proteína ABCB1, conocida como P-glicoproteína (P-gp). Esta proteína pertenece a la familia ATP-binding-cassette (ABC) transporters, dependientes de ATP. En nuestro Grupo de Investigación llevamos estudiando los efectos de la melatonina en la mitocondria desde hace años y se ha demostrado que la melatonina ejerce un efecto directo en el interior de la mitocondria, aumentando la actividad mitocondrial. En la célula tumoral tiene un efecto prooxidante, debido a que se produce un escape de electrones, lo que conlleva a un aumento de especies reactivas del oxígeno (ROS) y una disminución de la producción de ATP. Así, el primer objetivo es estudiar la conexión entre función mitocondrial, estrés oxidativo y quimioresistencia a la doxorubicina en células tumorales quimioresistentes MCF-7 (adenocarcinoma humano de mama) tratadas con y sin melatonina. El segundo objetivo es evaluar los efectos de la melatonina en células MCF-7 modificadas genéticamente para el gen ABCB1 utilizando la tecnología CRISPR/Cas9. Para llevar a cabo el primer objetivo se estableció una línea celular MCF7 resistente a la doxorubicina (DOX). Para ello, estas células se sometieron a tratamientos crecientes de DOX, desde 0,01 μM hasta 1 μM . Dicha quimioresistencia se comprobó a través de ensayos de viabilidad MTT Cyquant y Western-Blot de las proteínas ABCB1 y ABCB6. A continuación, se analizaron los niveles de ATP, NAD⁺/NADH, apoptosis mediante kit de anexina y producción de ROS por fluorescencia y Mito Tracker Green y Mitosox Red. Para el objetivo 2, mediante tecnología CRISPR/Cas9 se modificaron genéticamente las células MCF-7, inhibiendo y sobreexpresando el gen ABCB1. Se analizaron los mismos parámetros que en el objetivo 1. Los resultados muestran, en primer lugar, que se ha establecido de forma correcta una línea celular de MCF-7 resistente a DOX, ya que presentan una mayor tasa de viabilidad y proliferación ante la presencia de DOX que aquellas células no resistentes y una mayor expresión de las proteínas ABCB1 y ABCB6. En segundo lugar, hemos demostrado que el tratamiento con melatonina revierte la resistencia a la doxorubicina haciendo que las células sean más sensibles a este tratamiento. Además, hemos comprobado que este efecto de la melatonina es dependiente de la expresión de los transportadores ABCB1. En conclusión, podemos decir que el tratamiento con melatonina revierte la resistencia a la DOX en células resistentes MCF-7 y este efecto está vinculado a la expresión del transportador ABCB1.

BIOPSIA LÍQUIDA PARA EL ANÁLISIS DE LAS ALTERACIONES DEL HLA-I EN PACIENTES CON CÁNCER: UN PASO MÁS CERCA DE LA MEDICINA PERSONALIZADA

Alba Navarro-Ocón, Laura Cabo-Zabala, Berit Brinkman, J.Alberto López-Sánchez, Francisco Perea, Mónica Bernal, Martin Kerick, Annette Paschen, Federico Garrido, Francisco Ruiz-Cabello, Natalia Aptisauri

RESUMEN: Las células cancerígenas desarrollan mecanismos que les permiten escapar del sistema inmunológico, reduciendo así la tasa de éxito de tratamientos contra el cáncer tan prometedores como la inmunoterapia. Uno de los mecanismos más frecuentes asociados a la resistencia a inmunoterapia es la pérdida de la expresión del complejo de Antígenos Leucocitarios Humanos de clase I (HLA-I). Cuando la expresión del HLA-I se ve alterada en las células cancerígenas, éstas dejan de ser reconocidas y eliminadas por los linfocitos T. Así, resulta crucial analizar la expresión tumoral del HLA-I en los pacientes para predecir su respuesta a la inmunoterapia y seleccionar el tratamiento más eficiente de forma personalizada. Por tanto, proponemos como método de estudio del HLA-I tumoral el análisis del complejo a partir de exosomas derivados de tumor (TDEs) y DNA libre circulante (cfDNA) procedentes de pacientes con cáncer. Para ello, fue necesario comprobar si las alteraciones genéticas del HLA-I de las células cancerígenas podían ser detectadas en los TDEs procedentes de las mismas y determinar si los TDEs y el cfDNA podían ser empleados para identificar cambios en la expresión del HLA-I tumoral durante la progresión de la enfermedad. Con este fin, aislamos TDEs, cfDNA y DNA genómico de diferentes líneas celulares de cáncer de colon y melanoma. Como modelo de estudio de la progresión metastásica, purificamos TDEs, cfDNA y DNA genómico de tres líneas celulares establecidas a partir de una metástasis estadio III y dos lesiones consecutivas de estadio IV de un mismo paciente con melanoma, así como de dos muestras de suero humano representativas de la primera y la tercera lesión metastásicas. Se estudiaron los niveles de expresión en superficie del HLA-I en los TDEs, mediante citometría de flujo y Western blot. El genotipado del HLA-I, la secuenciación de la cadena ligera del complejo $\beta 2$ microglobulina (B2M) y el análisis de pérdida de heterocigosidad (LOH) en el HLA-I, se llevó a cabo a partir del cfDNA. Como resultado, se identificaron las mismas alteraciones genéticas de los alelos del HLA-I y la B2M en los TDEs y en sus líneas celulares de origen. Fue posible detectar la LOH en el cromosoma 15 (B2M) y en el cromosoma 6 (alelos del HLA-I) a partir de cfDNA, coincidiendo los datos con exactitud con los procedentes de DNA genómico de las células tumorales de origen. Usando cfDNA procedente de las muestras de suero del paciente modelo, el patrón de LOH concordaba con el que presentaba el DNA genómico de las líneas celulares aisladas en el mismo momento que fueron obtenidas dichas muestras. Por tanto, a pesar de que los resultados preliminares deben ser confirmados en una cohorte de pacientes más amplia y de que este estudio del HLA-I tumoral debe ser optimizado, este método posee el potencial para caracterizar las alteraciones tumorales del HLA-I y monitorizar los cambios en la expresión de este complejo durante la progresión metastásica de forma precisa y no invasiva. Consiste en una herramienta útil para lograr una selección individualizada del tratamiento, acercándonos un paso más a una medicina personalizada que aumente la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer.

PROYECTO NEMESIS: HACIA UNA INSTALACIÓN INNOVADORA PARA LA TERAPIA DEL CÁNCER MEDIANTE CAPTURA DE NEUTRONES Y PRODUCCIÓN DE RADIOISÓTOPOS PARA MEDICINA NUCLEAR

I. Porras, J. Expósito-Hernández, J.M. Llamas-Elvira, J.L. Osorio-Ceballos, O. Liñán, A. Ramírez-Navarro, A. Rodríguez-Fernández, F. Arias de Saavedra, M.C. Ruiz-Ruiz, M.J. Ruiz-Magaña, M.P. Sabariego, M. Pedrosa-Rivera, P. Torres-Sánchez, F. García-Infantes, P. Álvarez-Rodríguez, M. Porras-Quesada, I. Torres-Torres, E. López-Melero, A. Verdera, J. Praena

RESUMEN: La Terapia mediante captura de neutrones por boro (BNCT) es una modalidad experimental de radioterapia muy prometedora para los cánceres de mal pronóstico. Se basa en la acción combinada de dos agentes que no son tóxicos por sí mismos. En primer lugar, se le suministra al paciente un aminoácido borado (BPA) que en diversos tumores se ha mostrado ser captado selectivamente por las células tumorales, alrededor de 3.5 veces la captación en los tejidos sanos. A continuación, la región del tumor es irradiada con un campo amplio de neutrones de baja energía que depositan una muy baja dosis en los tejidos a excepción de las células donde se encuentra el boro, sobre las que induce una reacción con emisión de una partícula alfa, de alta energía y elevada efectividad biológica pero muy corto alcance (menor que el diámetro celular). Por tanto, es una estrategia de especial interés para tumores dispersos en órganos críticos [1]. Los ensayos clínicos en pacientes con Glioblastoma Multiforme o cánceres de cabeza y cuello muestran una mejora significativa respecto a las terapias actuales [2]. La principal limitación para la expansión de esta terapia ha sido la escasez de fuentes de neutrones adecuadas. Hasta el momento se han realizado todos los ensayos clínicos en los escasos reactores de investigación nuclear, que están lejos de los hospitales y producen un amplio espectro de neutrones que incluye neutrones de alta energía que no son deseables para la terapia. Sin embargo, la tecnología actual permite la producción de haces de neutrones de baja energía a partir de aceleradores que se pueden colocar en hospitales y muchas instalaciones de BNCT intrahospitalarias están en proyecto en diferentes países [3]. La Universidad de Granada y el Hospital Universitario Virgen de las Nieves han puesto en marcha el proyecto NEMESIS [4], que se basa en un diseño del grupo de Física Atómica, Molecular y Nuclear de un perfilador de haz de neutrones que, acoplado a un acelerador electrostático compacto existente en el mercado, produce un espectro de neutrones óptimo para BNCT, mejorando todos los diseños publicados anteriormente [5]. En este trabajo mostraremos un ejemplo de las posibilidades de esta instalación mediante una simulación de un tratamiento BNCT sobre un paciente real aquejado de un GBM, mostrando la capacidad de impartir una dosis terapéutica sobre todo el volumen clínico del tumor en una única sesión sin que los órganos de riesgo superen la dosis máxima tolerable, con un margen importante de seguridad. Por otra parte, en el proyecto NEMESIS y como novedad a nivel mundial se ha explorado la posibilidad de producir con la misma instalación para BNCT, diferentes radioisótopos para Medicina Nuclear, tanto los de uso común como los denominados emergentes como el ^{177}Lu , empleado en la terapia de tumores neuroendocrinos; así como otros de vida ultra corta como el ^{11}C , que ofrece grandes posibilidades de diagnóstico para PET, y actualmente no disponible dada su corta vida (20 minutos), lo que requiere su producción in-situ.

[1] RF Barth, Z Zhang and T Liu, Cancer Commun. 38: 36 (2018). <https://dx.doi.org/10.1186/s40880-018-0280-5> [2] NU-PPEC (Eur. Comm.), <http://www.nupecc.org/pub/npmed2014.pdf> [3] A.J. Kreiner et al, Rep Pract Oncol Radiother. 21: 95 (2016) <https://dx.doi.org/10.1016/j.rpor.2014.11.004> [4] I Porras, J Praena, F Arias de Saavedra, M. Pedrosa-Rivera, P. Torres-Sánchez et al., Appl Radiat Isot. 165:109247 (2020) <http://dx.doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109247> [5] P Torres-Sánchez, I Porras, N Ramos-Chernenko, F Arias de Saavedra and J Praena, Sci Rep. 11:7576

INFLUENCIA DE LA INHIBICIÓN DE PARP1 EN EL PROCESO DE MIGRACIÓN CELULAR Y EN LA RESPUESTA A RADIOTERAPIA EN CÁNCER DE PÁNCREAS

Francisco Quiñonero, Alba Ortigosa, Cristina Luque, Kevin Doello, Cristina Jiménez-Luna, Raúl Ortiz

RESUMEN: El adenocarcinoma ductal de páncreas (PDAC) es uno de los tumores con menor tasa de supervivencia (menor al 10% a los 5 años) y con menor capacidad de diagnóstico temprano en la actualidad, siendo su resección tumoral y el uso de radioterapia complicados debido a la alta extensión del tumor (infiltrado o metastásico) cuando es diagnosticado. El agente citotóxico Gemcitabina, un taxol encapsulado en forma de nanopartícula (nab-Paclitaxel) y el FOLFIRINOX (una combinación de varios fármacos) son los tratamientos empleados en pacientes metastásicos, siendo este último el más tóxico y efectivo. Por otra parte, la familia enzimática PARP juega un papel trascendental en el proceso de resistencia a fármacos en cáncer en general y el PDAC en particular, dada su gran importancia en el proceso de reparación de daños en el DNA. De hecho, la inhibición de su miembro principal, PARP1, sensibiliza a distintos tipos de cáncer frente a agentes quimioterapéuticos. El objetivo de este trabajo es emplear inhibidores de PARP1 junto a radioterapia *in vitro* para determinar la modulación que esta asociación puede inducir en la sensibilidad de líneas celulares de PDAC frente a la quimioterapia, además de comprobar el efecto que posee esta inhibición en el proceso de migración celular *in vitro*. Para ello se empleó la línea celular Panc02 (P2) y una derivada de esta que poseía la expresión de PARP1 inhibida de forma estable, generada mediante transducción con lentivirus (Panc02-L, P2L). Las células fueron cultivadas en medio DMEM suplementado e incubadas a 37°C y 5% CO₂ y tratadas con un inhibidor de PARP1 (Olaparib), en una concentración inhibitoria celular del 25% (IC₂₅) y del 50% (IC₅₀). Mediante RT-qPCR y Western Blot se valoró la expresión genética y de proteína de PARP1. Los experimentos de citotoxicidad fueron valorados mediante Sulforrodamina B. Para analizar la migración, las células fueron sembradas y el siguiente día se eliminó el suero del medio impidiendo el crecimiento mediante proliferación. Posteriormente, se realizó una raya en el centro del pocillo y su capacidad migratoria fue estudiada durante las 72 horas posteriores. Los resultados obtenidos muestran que (1) el tratamiento de presensibilización empleando Olaparib disminuye la expresión de PARP1 en un 14% (IC₂₅) y un 72% (IC₅₀). Además, (2) esta presensibilización disminuye la proliferación y la resistencia al fármaco Gemcitabina en ambas líneas celulares, reduciendo la IC₅₀ de ambas en un 50-60%, mientras que la irradiación provoca una disminución menor (35% en la línea P2 y no mostrando diferencias significativas en P2L). Unido a esto, (3) las células tratadas con sensibilización previa e irradiación producen las mayores inhibiciones frente al control, demostrando que la combinación de ambos tratamientos potencia la inhibición de la proliferación tumoral. Por otro lado, (4) el pretratamiento de sensibilización con Olaparib y el uso del fármaco durante el proceso migratorio disminuyen la capacidad de invasión de las células en ambas líneas celulares, siendo este fenómeno más relevante en la línea basal. Se concluye que (1) la combinación de un inhibidor de PARP1 y la radioterapia potencia el efecto antitumoral en células en cultivo de PDAC, pudiendo ser su uso como pretratamiento útil para conseguir una reducción en la masa tumoral más efectiva y (2) la inhibición de PARP1 disminuye la capacidad migratoria de las células, siendo estas menos invasivas y pudiendo ser una terapia eficaz para evitar la metástasis en pacientes que posean el tumor localizado.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTITUMORAL DE LA TIGECICLINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CÁNCER COLORRECTAL ASOCIADO A COLITIS: IMPACTO EN LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Antonio Jesús Ruiz Malagón, Laura Hidalgo García, María Jesús Rodríguez Sojo, Jose Alberto Molina Tijeras, Patricia Diez Echave, Teresa Vezza, José Garrido Mesa, María Elena Rodríguez Cabezas, Alba Rodríguez Nogales, Juan Antonio Marchal, Julio Gálvez

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los cánceres con mayor incidencia y mortalidad, siendo el segundo más frecuente en mujeres y el tercero en varones. Esta enfermedad se asocia con la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores, originando un crecimiento celular descontrolado y evasión de la apoptosis, características principales de las células tumorales. Se ha observado que la inflamación crónica que caracteriza a la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) puede contribuir al inicio y desarrollo del CCR, favoreciendo la aparición de estas mutaciones. Además, tanto la EII como el CCR se asocian con una alteración en la composición y/o función de la microbiota intestinal o disbiosis. Este estudio evalúa el efecto antitumoral de la tigeciclina, una tetraciclina de tercera generación con propiedades inmunomoduladoras, in vitro, en la línea celular de cáncer de colon HCT-116, e in vivo, en un modelo experimental de CCR asociado a colitis (CAC), valorando los cambios en la microbiota y utilizando el 5-fluorouracilo (5FU) como control positivo. En los estudios in vitro se analizó el efecto antiproliferativo de los tratamientos mediante los ensayos de MTT y clonogénico, evaluando el impacto de estos en la vía de señalización Wnt/ β -catenina canónica. Además, se hizo un ensayo de TUNEL y citometría de flujo (FACS) de los marcadores anexinaV/yoduro de propidio para la evaluación de la apoptosis. Los niveles de marcadores involucrados en el proceso de proliferación, apoptosis y de generación de células madre tumorales (CMT) fueron determinados mediante RT-qPCR y western blot (WB). El ensayo in vivo de CAC consistió en la administración a ratones hembra C57Bl/6J de azoximetano (10 mg/kg, i.p.) seguida de tres ciclos de sulfato de dextrano sódico (DSS) (2% p/v) en agua de bebida durante 5 días, con dos semanas de reposo entre cada ciclo. Dos grupos de ratones (n=10) fueron tratados con tigeciclina (25 ó 50 mg/kg) y un tercero, con 5FU (15 mg/kg cada 3 días), durante las últimas 7 semanas del ensayo. El índice de actividad de la enfermedad (DAI) fue evaluado periódicamente y el día previo al final del ensayo se hizo una colonoscopia para evaluar el daño tumoral. Además, las muestras de colon se analizaron por expresión génica, WB y FACS. Por último, en los contenidos intestinales se analizó la composición microbiana (secuenciación con Illumina MiSeq). Los resultados revelaron que la tigeciclina ejerció un efecto antiproliferativo in vitro, con disminución significativa y dosis-dependiente del número de colonias en el ensayo clonogénico y de la actividad mitocondrial evaluada en el ensayo MTT. Este efecto antiproliferativo se asoció con una reducción de la actividad de la vía de señalización Wnt/ β -catenina canónica, incrementando la β -catenina fosforilada y reduciendo la β -catenina nuclear, y los genes de esta vía involucrados en la proliferación celular. La tigeciclina y el 5FU favorecieron la apoptosis al incrementar los niveles de células Anexina V positivas, hecho que fue confirmado con el ensayo de TUNEL. In vivo, la tigeciclina redujo la inflamación asociada al proceso tumoral, con reducción del DAI, así como de la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y de los niveles de macrófagos asociados al tumor (TAM). Además, la tigeciclina y el 5FU redujeron el número y el tamaño de los tumores. Se observó una reducción de los niveles de células madre tumorales (CD44+/LGR5+/CD133+/CD326+) y de la expresión de marcadores implicados en el proceso tumoral como Ccnd1 y Angpt2. Por último, la tigeciclina (50 mg/kg) consiguió restaurar la microbiota alterada en el proceso tumoral, recuperando la biodiversidad microbiana. En conclusión, la tigeciclina ejerce un efecto anti-proliferativo y pro-apoptótico in vitro e in vivo que, junto con su acción inmunomoduladora y su efecto sobre la modulación de la microbiota intestinal, hace que pueda ser considerada un candidato antitumoral para el tratamiento del CCR.

CARACTERIZACIÓN DEL PATRÓN DE GLICOSACION EN LA PROTEÍNA DE FUSIÓN FC TERAPÉUTICA ZIV-AFLIBERCEPT MEDIANTE ANÁLISIS DEL MAPA PÉPTIDO OBTENIDO POR LC-MS/MS(ORBITRAP)

Julio Ruiz-Travé (1,2), Raquel Pérez-Robles (1,2,3), Jesus Hermosilla (1,2), Antonio Salmerón-García (2,4), Jose Cabeza (2,4), Natalia Navas (1,2)

1. Department of Analytical Chemistry, Science Faculty, University of Granada, Granada, Spain. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, Spain. 3. Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental-Alejandro Otero, Granada, Spain. 4. Department of Clinical Pharmacy, San Cecilio University Hospital, Granada, Spain.

RESUMEN: Las proteínas de fusión-Fc, que son el principio activo de medicamentos biotecnológicos, se caracterizan por presentar una alta eficacia y especificidad por su diana terapéutica sin generar elevado número de efectos adversos. En consecuencia, son el tratamiento ideal para enfermedades crónicas como el cáncer y distintos trastornos autoinmunes. Estas se fabrican a partir de técnicas de ingeniería genética, mediante las cuales se concatenan diferentes secuencias parentales de distintas proteínas para generar una proteína de mayor complejidad. Estas construcciones, generalmente presentan el dominio Fc de una inmunoglobulina IgG1 humana para beneficiarse del aumento de vida media en sangre, a la que se le unen distintas moléculas como citoquinas, péptidos u hormonas entre otros, aportando nuevas propiedades biológicas. Desde un punto de vista estructural, estas proteínas de fusión-Fc presentan una alta complejidad y un gran tamaño (115 kDa aprox); además, presentan ciertas modificaciones postraduccionales (PTM, por sus siglas en inglés) de diferente índole (oxidaciones, desamidaciones, isomerizaciones, glicosilaciones, etc). Los N-glicanos, en particular, tienen un efecto muy importante en el plegamiento, conformación, localización y actividad de la proteína; influyendo de esta forma en la eficacia, efectividad y seguridad de los medicamentos biotecnológicos, considerándose un potente atributo crítico de la calidad (CQA, por sus siglas en inglés) (1,2). Además, estas PTMs generan cierta heterogeneidad estructural en los principios activos, que ha de considerarse tanto entre distintos lotes como dentro de un mismo lote. Como consecuencia, se están desarrollando métodos analíticos multi-atributo (MAM, por sus siglas en inglés), con los que se pretenden analizar una amplia batería de CQAs por medio de uno o pocos ensayos. De entre todos los MAM existentes, cabe destacar el mapeo peptídico o "peptide mapping", donde a partir de un digerido peptídico analizado por espectrometría de masas de alta resolución y masa exacta, se genera una información sitio-específica de la secuencia primaria de la proteína en estudio, permitiendo la identificación y cuantificación de PTMs con alta fiabilidad (3). En este trabajo se ha empleado un MAM basado en el análisis del mapa peptídico de aflibercept (Zaltrap®, 25 mg/mL) obtenido tras su digestión enzimática. Los glicopéptidos generados son separados por cromatografía líquida en fase reversa acoplada a espectrometría de masas de alta resolución y masa exacta (RP/UHPLC-(Orbitrap)MS/MS), para el estudio del perfil de N-glicanos. Se conoce que esta proteína de fusión es muy compleja estructuralmente debido principalmente a su elevada glicosilación (15% del peso molecular), lo cual ha impedido hasta el momento su análisis intacto mediante espectrometría de masas (4). El análisis mediante la estrategia propuesta, permite determinar y caracterizar dicho patrón de N-glicanos presentes en la proteína, el cual, confirman los resultados obtenidos, es muy complejo por su gran variedad.

[1] Higel, F. et al. N-glycosylation heterogeneity and the influence on structure, function and pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc fusion proteins. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 100, 94–100 (2016) doi: 10.1016/j.ejpb.2016.01.005. [2] Higel, F. et al. N-glycans of complex glycosylated biopharmaceuticals and their impact on protein clearance. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 139, 123–131 (2019) doi: 10.1016/j.ejpb.2019.03.018. [3] Rogstad, S. et al. Multi-Attribute Method for Quality Control of Therapeutic Proteins. *Anal. Chem.* (2019) doi:10.1021/acs.analchem.9b03808. [4] Pérez-Robles, R., Cuadros-Rodríguez, L., Salmerón-García, A., Cabeza-Barrera, J. & Navas, N. Intact charge variant analysis of ziv-aflibercept by cationic exchange liquid chromatography as a proof of concept: Comparison between volatile and non-volatile salts in the mobile phase. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 185, (2020) doi: 10.1016/j.jpba.2020.113233.

RESISTENCIA CRUZADA A LOS TRATAMIENTOS DE SEGUNDA LÍNEA APALUTAMIDA Y DOCETAXEL EN MODELOS CELULARES DE CÁNCER DE PRÓSTATA RESISTENTE A LA CASTRACIÓN

Iris Simon, Pablo Lupiañez, Sonia Perales, María J. Serrano, Pedro J. Real.

RESUMEN: El cáncer de próstata (CaP) es el tipo de tumor más frecuente en varones no fumadores a nivel mundial y ocupa el tercer lugar como causa de muerte por cáncer en varones, por detrás sólo del cáncer de pulmón y colon. El tratamiento de elección para el CaP es la terapia de deprivación androgénica (ADT). Aunque el ADT es inicialmente efectivo, los pacientes comúnmente desarrollan lo que se denomina Cáncer de Próstata Resistente a la Castración (CRPC). Dado que los andrógenos estimulan el crecimiento de las células cancerosas de próstata mediante la unión al receptor de andrógenos (AR), los pacientes con CRPC son comúnmente tratados como primera línea de actuación con fármacos bloqueadores del AR como Abiraterona (AA) y Enzalutamida (Enz). Sin embargo, también se generan mecanismos de resistencia contra estos tratamientos. Por ello, se usan fármacos de segunda línea con mecanismos de acción diferentes como el antiandrogénico Apalutamida o el antineoplásico taxoide Docetaxel. El objetivo de este trabajo es evaluar si el CRPC también podría originar resistencia cruzada a los tratamientos de segunda línea. Ya que un enfoque adecuado de los tratamientos para el CaP es fundamental para evitar la progresión de la enfermedad. Para comprobar esta hipótesis, en el laboratorio generamos modelos celulares de CaP resistentes a ADT de manera exclusiva, o en combinación con AA y/o Enz (modelos concomitantes). Primero, las diferentes líneas celulares resistentes se trataron durante 5 días con los fármacos de segunda línea (Apa o Docetaxel). En estas líneas, se realizaron análisis funcionales y genéticos para cada tratamiento mediante ensayos de proliferación celular en tiempo real, ciclo celular, expresión de mRNA (AR y sus variantes, genes de pluripotencia y EMT), así como ensayos de migración e invasión celular. Notablemente, observamos una disminución de la sensibilidad al antiandrogénico Apa en la mayoría de las líneas celulares resistentes en comparación con las líneas control. Esta resistencia cruzada se ve reflejada en tasas de proliferación y perfiles de ciclo celular normales en presencia de Apa, especialmente en líneas celulares resistentes a ADT donde este efecto se vio intensificado. En el caso del fármaco Docetaxel, sorprendentemente las líneas resistentes a ADT desarrollaron una resistencia cruzada. Sin embargo, los modelos concomitantes conservan su sensibilidad a este tratamiento. Nuestros resultados preliminares tienen una gran relevancia clínica ya que sugieren que el enfoque actual para el tratamiento de CRPC podría cuestionarse. Sin embargo, aún se necesitan estudios más profundos para dilucidar los mecanismos involucrados en la adquisición de resistencia.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE NIVOLUMAB MEDIANTE SU UNIÓN A SU DIANA TERAPÉUTICA (PD-1) TRAS SU EXPOSICIÓN A ESTRÉS AMBIENTAL POR TEMPERATURA Y LUZ

Anabel Torrente-López, Jesús Herмосilla, Adolfinа Ruiz-Martínez, José Cabeza, Antonio Salmerón-García, Natalia Navas

RESUMEN: Los anticuerpos monoclonales (mAbs) terapéuticos son utilizados principalmente en ámbito hospitalario. Estos medicamentos de origen proteico se degradan fácilmente y su manipulación rutinaria hospitalaria puede comprometer su estabilidad, produciéndose cambios estructurales que pueden pasar inadvertidos y afectar a su seguridad y eficacia. En este contexto se enmarca la importancia de estudiar la estabilidad en condiciones de uso hospitalario de mAbs innovadores inhibidores de puntos de control inmunitario -como nivolumab- en aspectos relacionados con su manejo en la práctica clínica diaria. La caracterización funcional y evaluación de la actividad biológica de los mAbs terapéuticos es una parte fundamental de los estudios de estabilidad [1]. La técnica ELISA es una técnica de inmunoensayo idónea para evaluar la funcionalidad de estos mAbs a través de la unión del propio anticuerpo específico a su diana terapéutica. Además, la realización de estudios de degradación forzada (estreses) ofrece la oportunidad de conocer en profundidad la forma en la que la manipulación inherente a la práctica clínica diaria puede comprometer la eficacia de los mAbs por pérdida o disminución de su acción terapéutica, es decir, por pérdida o disminución de la capacidad de unión al antígeno para el cual el mAb fue diseñado. Nivolumab (Opdivo®, 10 mg/mL) es un mAb humano de inmunoglobulina G4 (IgG4) que se une al receptor de muerte programada 1 (PD-1) y bloquea su interacción con los ligandos PD-L1 y PD-L2. Por su mecanismo de acción, se utiliza en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, tales como el melanoma, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), linfoma de Hodgkin clásico (LHc), entre otros [2]. En este trabajo se presenta el impacto que ejerce la temperatura (calor) y la luz visible sobre la funcionalidad de nivolumab (Opdivo®). El estrés por temperatura se llevó a cabo en un Eppendorf ThermoMixer® C (40°C, 1h). El estrés lumínico se realizó en una cámara de estrés acelerado que simula la luz solar (250 W/m², 24h, 25°C). Para evaluar la funcionalidad de nivolumab -mediante su unión específica a PD-1-, se desarrolló, optimizó y validó un nuevo método ELISA indirecto y no competitivo, y se estableció el modelo de calibración para poder abordar el estudio de la actividad biológica remanente en las muestras estresadas del medicamento Opdivo® (nivolumab). Los resultados mostraron que el estrés por temperatura no afecta significativamente a la unión de nivolumab con su diana terapéutica, estimándose una actividad biológica remanente alrededor del 94%. En cambio, el estrés lumínico provocó una gran disminución de la funcionalidad de nivolumab, dando un promedio de actividad biológica remanente alrededor del 60%. Se puede concluir que la exposición del medicamento Opdivo® (nivolumab 10 mg/mL) a una temperatura de 40°C durante 1 hora no afecta a la funcionalidad de nivolumab, mientras que la exposición a la luz solar puede comprometer la eficacia de dicho medicamento, llegando a perderse alrededor de la mitad de su actividad biológica tras 1 hora de exposición a las condiciones estresantes seleccionadas.

[1] International Conference on Harmonisation (ICH) guidelines ICH Q 5 C. Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products, 1996. [2] European Medicines Agency. Nivolumab: Summary of Product Characteristics. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_en.pdf

SOBREEXPRESIÓN DE LA ONCOPROTEÍNA IMP3 EN NEOPLASIAS COMO BIOMARCADOR DE MAL PRONÓSTICO

Martin-Morales N., Ramírez C., Ramírez-Moreno E., Caba-Molina M., Padial Molina M., Tovar I., Davis J G., Padial Molina M., Tovar I., Ruiz de Almodovar J., Galindo Moreno P., Oliver FJ, O'Valle F.,

RESUMEN: La sobreexpresión de la proteína 3 de unión al ARN mensajero (ARNm) del factor de crecimiento similar a la insulina (IMP3) juega un papel clave en la transmisión y estabilización del ARNm, el crecimiento celular y la migración durante la embriogénesis. El aumento de la expresión de IMP3 se asocia con un comportamiento agresivo de diferentes tipos de tumores, un estadio clínico avanzado, metástasis a distancia y una supervivencia general más corta. IMP3 es un predictor de la recurrencia de tumores y metástasis en algunos tipos de melanoma humano, pero no en otras lesiones cutáneas benignas, lo que ha planteado la posibilidad de utilizarlo como biomarcador predictivo y pronóstico. Nuestro grupo ha explorado su relación con la biopsia del ganglio linfático centinela. El objetivo del presente trabajo es evaluar la expresión inmunohistoquímica de IMP3 y otras moléculas relacionadas con el pronóstico tumoral en una serie retrospectiva de 120 muestras histológicas de pacientes diagnosticados de melanoma cutáneo maligno entre 2012 y 2018. Todos los pacientes habían tenido una biopsia de ganglio centinela (BSGC) realizada en el Hospital Universitario Clínico San Cecilio. A nivel experimental, probamos el efecto del tratamiento con radioterapia (RT) y células estromales mesenquimales (MSCs), analizando la capacidad tumorigénica y metastatizante en un modelo de xenoinjerto de melanoma de ratón. Para ello se inocularon líneas celulares de melanoma humano A375 y G361 en ratones gamma NOD / SCID (n = 64). Se establecieron los siguientes grupos: control, tratados con MSC, tratados con MSC más RT y tratados con RT. Evaluamos la expresión inmunohistoquímica de IMP3, E-cadherina, N-cadherina, PARP1, HIF-1 α y el marcador de proliferación Ki-67. En los resultados observamos una diferencia significativa con respecto al porcentaje de células que expresan IMP3 (29,73 \pm 3,81 para SLNB negativo frente a 44,86 \pm 5,91 para SLNB positivo, p = 0,020). Nuestro criterio de valoración calculado según la curva ROC del 35% fue significativo con p = 0,007. Los índices H (P = .013) y AR (P = .016), creados por el porcentaje de células tumorales positivas y la intensidad de la expresión de IMP3, también fueron estadísticamente significativos. A nivel experimental, la mayoría de las características morfológicas e inmunohistoquímicas mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos líneas celulares. La línea celular A375 indujo la formación de metástasis, mientras que la línea celular G361 provocó la formación de tumores pero no metástasis. También encontramos que la expresión de IMP3 (Figura) está relacionada con una mayor agresividad tumoral y se correlacionó significativamente con la proliferación celular (medida por la expresión de Ki-67), el número de metástasis y la expresión reducida de moléculas de adhesión. El tratamiento combinado de RT más MSC redujo significativamente la expresión de la proliferación de Ki-67 y el marcador pronóstico IMP3. En conclusión: encontramos una asociación significativa entre la expresión de IMP3 y el estado ganglionar regional definido por la BSGC en los melanomas malignos de nuestra serie. Y experimentalmente el tratamiento combinado de RT más MSC reduce la expresión de moléculas relacionadas con la proliferación celular de Ki-67 y de marcadores que facilitan el proceso metastásico (E-cadherina) y pronósticos relacionados (IMP3) en el melanoma xenotrasplantado.

PONENCIAS

1. El pez cebra como modelo para estudiar las claves del envejecimiento del músculo esquelético
2. Machine Learning en espectrometría de masas como herramienta diagnóstica para infecciones resistentes
3. El epigenoma del Lupus Eritematoso Sistémico: subtipos moleculares, perfiles de auto-anticuerpos e influencias genéticas
4. Caracterización del ratón knockout para Bmal1 inducible y específico de músculo esquelético (iMS-Bmal1^{-/-}) como modelo para el estudio de la sarcopenia
5. Identificación de los mecanismos moleculares detrás de las asociaciones genéticas en esclerosis múltiple
6. Vigilancia de Infección humana por virus West Nile en Andalucía: desde la clínica a la genómica
7. Derivados de naftaleno diimida como ligandos de G-quadruplex que actúan como agentes anti-parasitarios
8. La región 3'UTR del genoma de WNV es una excelente diana para el desarrollo de fármacos anti-virales
9. Efectos de un extracto de Thymus serpyllum en un modelo de obesidad en ratones
10. CD38 deficiency ameliorates chronic graft versus host disease murine lupus via a B-cell dependent mechanism
11. Papel de la enzima fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNAP) en el epitelio intestinal en la inflamación
12. La minociclina mejora el dolor asociado a la inflamación en la colitis experimental inducida por DSS en ratones
13. Programa IIMENA: integración de la bioinformática y la ingeniería metabólica en el descubrimiento de nuevos antibióticos

EL PEZ CEBRA COMO MODELO PARA ESTUDIAR LAS CLAVES DEL ENVEJECIMIENTO DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Paula Aranda-Martínez, Nicolás Del Cuerpo-Salinas, Germaine Escames, Darío Acuña-Castroviejo

RESUMEN: El envejecimiento es un importante factor de riesgo para muchas enfermedades, incluso siendo el más importante para algunas de ellas. Gracias a los avances biomédicos, la edad media de la población ha aumentado a lo largo de las últimas décadas y ahora estamos afrontando un envejecimiento poblacional elevado. Hoy en día, la esperanza de vida es igual o superior a 60 años y se espera que para 2050 haya un aumento de 900 millones con respecto a 2015. Afortunadamente, la investigación en este campo está creciendo y el pez cebra surge como un modelo óptimo para su estudio. Aunque el proceso intrínseco del envejecimiento no está claro aún, se conoce que cursa con una inflamación crónica debido a la liberación de una gran cantidad de citoquinas inflamatorias, responsables de la pérdida de masa muscular, lo que se conoce como sarcopenia. Todavía se sabe muy poco sobre la relación entre la inflamación y la sarcopenia. La inflamación intramuscular tiene un papel muy importante en la regulación de las señales de reparación, remodelación y mantenimiento del músculo. Pero si esta inflamación se produce de forma persistente, conduce a la atrofia muscular y disminución de la capacidad regenerativa. Recientemente se ha demostrado que durante la atrofia muscular hay una pérdida importante de mitocondrias, así como cambios en la morfología y función mitocondrial. También se produce una alteración de los procesos de dinámica mitocondrial, fusión y fisión, que afectan a muchas vías de señalización. En este estudio queremos esclarecer algunos de los procesos que tienen lugar durante el envejecimiento en el músculo esquelético del pez cebra. Para ello hemos utilizado peces cebra de hasta 60 meses de edad y hemos analizado la actividad locomotora, aspectos biométricos, expresión de genes implicados tanto en la función muscular como la dinámica mitocondrial y la organización de las fibras musculares. Finalmente, hemos observado una disminución de la actividad locomotora con la edad, tanto de la distancia recorrida como de la velocidad media y máxima. También existe una disminución de la miogénesis, una alteración en la vía de señalización Akt/mTOR/p70s6k y de los procesos de dinámica mitocondrial. Y por último, mediante microscopía encontramos una desorganización del músculo esquelético que va avanzando con la edad.

MACHINE LEARNING EN ESPECTROMETRÍA DE MASAS COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA PARA INFECCIONES RESISTENTES

Manuel J. Arroyo, Gema Méndez, Margarita Estreya Zvezdanova, Ana Candela-Gonzalez, Pilar Escribano, David Rodríguez-Temporal Belén Rodríguez-Sánchez, Eva G. Corral, Marina Oviaño, Younes Smani, Luis Mancera.

RESUMEN: El desarrollo constante de las resistencias a antimicrobianos (RAM) está catalogado por la OMS como una de las 10 amenazas para la salud pública y para el desarrollo económico mundial. Además del costo que suponen para la economía por incrementar los tiempos de ingreso o el uso de medicamentos más caros, son factores que aumentan de forma directa el índice de mortalidad y morbilidad en pacientes con estas infecciones. Estos microorganismos presentan un desafío para los hospitales, donde el tiempo en el diagnóstico e identificación de infecciones nosocomiales resistentes es un factor determinante para el pronóstico del paciente. Frente a los métodos convencionales de identificación y clasificación de microorganismos, la espectrometría de masas MALDI-TOF se ha convertido en un método de referencia en la rutina de muchos laboratorios de microbiología clínica de todo el mundo por su facilidad, especificidad y su relación costo-eficacia. La posibilidad de analizar directamente pruebas clínicas, junto con la aplicación de una metodología basada en Machine Learning, está permitiendo el desarrollo de módulos informáticos predictivos que identifican y clasifican mecanismos de resistencia. Los datos obtenidos en forma de espectros a partir del espectrómetro de masas son pre-procesados por sistemas informáticos desarrollados con el fin de crear matrices de picos. Estas matrices son usadas como datos de entrada de algoritmos de aprendizaje automático para formar bases de predicción que puedan identificar y clasificar las cepas de microorganismos resistentes para las que se han programado ayudando al diagnóstico de estas infecciones. En esta dirección, grupos de investigación a nivel nacional de diversos departamentos de microbiología como el del Complejo Hospitalario A Coruña, o el Hospital Gregorio Marañón han venido colaborando junto a Clover Biosoft, para la clasificación de bacterias productoras de carbapenemasas, la identificación de mecanismos de resistencia de *K. Pneumoniae*, detección de brotes de *Pseudomonas aeruginosa*, clasificación de cepas del género *Clostridium*, identificación de hongos resistentes del género *Aspergillus* o *Cryptococcus*, responsables de infecciones oportunistas, o la clasificación de cepas de *E. Coli* susceptibles a desarrollar resistencias, esta última, en colaboración con el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

EL EPIGENOMA DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO: SUBTIPOS MOLECULARES, PERFILES DE AUTO-ANTICUERPOS E INFLUENCIAS GENÉTICAS

Olivia Castellini-Pérez, Guillermo Barturen, Manuel Martínez-Bueno, Elena Carnero-Montoro, Marta E. Alarcón-Riquelme

RESUMEN: El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune sistémica prototípica caracterizada por una etiología compleja y una sintomatología altamente heterogénea. Las alteraciones epigenéticas, por otro lado, se conocen por ser mediadoras de factores ambientales y genéticos y por su impacto en programas transcripcionales. El objetivo de este trabajo es incrementar el conocimiento de las alteraciones epigenéticas en LES, mediante el estudio de su asociación con subtipos moleculares, con perfiles serológicos y genéticos, con la transcripción y con la producción de citoquinas. Para ello, se usan datos generados en el proyecto PRECISEADs. Los datos de metilación del ADN se obtuvieron con illumina HumanMethylation EPIC BeadChip y se combinaron con datos genéticos y RNAseq basados en 207 pacientes de LES y 235 controles sanos, procedentes de PRECISEADs. Realizamos estudios de asociación de todo el genoma en análisis estratificados, que interrogan la influencia en las asociaciones epigenéticas de la presencia de auto-anticuerpos y de perfiles moleculares. A continuación, realizamos análisis de loci de rasgos cuantitativos (meQTL) de la metilación, asociaciones epigenéticas con la expresión de citoquinas y correlaciones de expresión con la metilación. Con este estudio observamos que existe metilación diferencial en 1.198 CpGs a lo largo de todo el genoma, asociados a los diferentes subtipos de LES y a los perfiles de auto-anticuerpos. Además, se obtienen loci genéticos novedosos y asociados con LES que podrían ejercer un riesgo a través de los cambios de la metilación del ADN. Por otro lado, se obtienen meQTLs novedosos que regulan los CpGs específicos asociados a LES en contextos inmunológicos concretos. Este estudio expande la lista de CpGs asociados con la heterogeneidad de LES y otras vías implicadas en el desarrollo de la enfermedad. Nuestros descubrimientos revelan nuevas variantes genéticas de riesgo asociadas a LES con un papel regulatorio. Además encontramos meQTLs específicos de la enfermedad, así como nuevos potenciales biomarcadores moleculares para los diferentes subtipos de LES y nuevas dianas terapéuticas.

CARACTERIZACIÓN DEL RATÓN KNOCKOUT PARA BMAL1 INDUCIBLE Y ESPECÍFICO DE MÚSCULO ESQUELÉTICO (IMS-BMAL1-/-) COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA SARCOPENIA

José Fernández-Martínez*, Yolanda Ramírez-Casas*, Germaine Escames, Darío Acuña-Castroviejo.
(*Ambos autores han contribuido de igual manera en este trabajo)

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada; CIBERFes; Ibs.Granada; UGC de Laboratorios Clínicos, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada.

RESUMEN: Entre 2015 y 2050, la proporción de la población mundial con más de 60 años de edad pasará de 900 millones hasta 2000 millones, lo que representa un aumento del 12% al 22%. Esta transición demográfica va acompañada de la aparición de nuevas enfermedades asociadas al envejecimiento, suponiendo un grave problema sanitario sin precedentes. En este contexto, la sarcopenia es una enfermedad asociada al envejecimiento que dificulta la calidad de vida de las personas que la padecen, ya que produce dependencia y fragilidad debido a la pérdida progresiva de la masa, fuerza y función muscular. Actualmente, no existe ningún tipo de tratamiento frente a la sarcopenia, siendo el ejercicio físico y el aumento de la ingesta proteica las únicas formas de prevenir o retrasar la aparición temprana de esta enfermedad. Por este motivo, se hace imprescindible el desarrollo de nuevos modelos experimentales para comprender mejor esta patología y encontrar nuevas dianas terapéuticas. Aunque los mecanismos que conllevan a la sarcopenia no están completamente definidos, se han reportado algunos procesos involucrados en esta patología, como la inflamación dependiente de la edad, la reducción de la defensa antioxidante endógena del organismo, el estrés oxidativo y el daño mitocondrial. Además, cada vez hay más evidencias que sugieren una conexión entre la disrupción del reloj biológico, el envejecimiento y la activación de la inmunidad innata. Particularmente se ha visto que la expresión del gen reloj Bmal1, que presenta propiedades antiinflamatorias y mejora la función mitocondrial, está disminuida en el músculo envejecido. El objetivo de este trabajo es desarrollar un modelo murino knockout para Bmal1 inducible y específico de músculo esquelético (IMS-Bmal1-/-) que nos permita estudiar la relación entre cronodisrupción, inflamación, disfunción mitocondrial y pérdida muscular en el envejecimiento. Nuestros estudios fenotípicos preliminares (SMART, Treadmill, ClockLab, cociente peso músculo gastrocnemio/peso corporal, índice de fragilidad (FI)) muestran una caída significativa de la función muscular en ratones IMS-Bmal1-/- en comparación con ratones control, especialmente en machos. Posteriormente, análisis histológicos y de microscopía electrónica, y estudios moleculares nos indicarán si esos cambios se asocian a la sarcopenia.

IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS MOLECULARES DETRÁS DE LAS ASOCIACIONES GENÉTICAS EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Antonio Alcina, María Fedetz, Fuencisla Matesanz

RESUMEN: La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante del sistema nervioso central. De etiología desconocida, sabemos que la interacción entre factores genéticos y ambientales podrían estar en el origen de la EM. Hasta la fecha se han identificado 200 regiones del genoma donde se localizan polimorfismos asociados con susceptibilidad a padecer la enfermedad. En los últimos años hemos estudiado las variantes causales de las asociaciones y caracterizado los efectos funcionales que se asocian a ellas. Hemos descrito polimorfismos que alteran la expresión de los genes y CYP27B1 y CYP24A1, que codifican proteínas implicadas en la activación y degradación de la vitamina D. Variantes que afectan la expresión de genes reguladores de la lectura de marcas epigenéticas, como la proteína sp140, o la regulación del crecimiento y diferenciación de células madre. La mayor parte de las alteraciones genéticas que hemos analizado tienen una conexión con factores ambientales de riesgo para la enfermedad, lo que pone de manifiesto la necesidad de abordar interacción gen-ambiente para determinar el origen de la EM y las futuras estrategias terapéuticas.

VIGILANCIA DE INFECCIÓN HUMANA POR VIRUS WEST NILE EN ANDALUCÍA: DESDE LA CLÍNICA A LA GENÓMICA

Casimiro-Soriguer CS, Perez-Florido J, Fernandez-Rueda JL, Pedrosa-Corral I, Guillot-Sulay V, Lorusso N, Martinez-Gonzalez LJ, Navarro-Marí JM, Dopazo J, Sanbonmatsu-Gómez S

RESUMEN: Se presentan los datos de diagnóstico de laboratorio obtenidos en el Laboratorio de Referencia del HU Virgen de las Nieves, de los últimos brotes (2020 y 2021) de infección humana por virus West-Nile en Andalucía, así como la herramienta <https://www.clinbioinfospa.es/projects/WNV/> diseñada por el Área de Bioinformática Clínica de la Fundación Progreso y Salud, para caracterización filogenética de virus circulantes en nuestro medio.

DERIVADOS DE NAFTALENO DIIMIDA COMO LIGANDOS DE G-QUADRUPLEX QUE ACTÚAN COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS

Manuel Pérez-Soto, Pablo Peñalver, Dora Weenink, Steven T. G. Street, Michael P. O'Hagan, M. Carmen Galan and Juan Carlos Morales.

RESUMEN: Los G-quadruplex o G4 son unas estructuras secundarias que se encuentran en el ADN y ARN y que juegan un papel muy importante en la regulación de la expresión de genes en células humanas. Estos se han propuesto como dianas terapéuticas para tratar el cáncer [1]. Asimismo, se han encontrado secuencias capaces de formar G-quadruplex en el genoma de parásitos como *T. brucei*, *L. major* y *P. falciparum*. Este hecho posibilita su estudio como potenciales dianas terapéuticas. Los ligandos de G-quadruplex frecuentemente están formados por una estructura aromática heterocíclica que es modificada con grupos con carga positiva. Hemos explorado la influencia que tienen las cadenas laterales y grupos cargados sobre el conocido ligando de G-quadruplex: naftaleno diimida (NDI). Nuestro punto de partida es NDI 1, un compuesto que mostró un valor de IC50 de 0,41 μM en HeLa [2] y 0,94 μM frente al parásito *Trypanosoma brucei*. Entre los nuevos compuestos sintetizados, destacamos NDI MPS16 que contiene un grupo piperazina y una cadena lateral con una conformación restringida que resultó en un IC50 de 0,086 μM frente a *T. brucei* con un índice de selectividad de 19,59 (Índice de selectividad = IC50 MRC5 / IC50 *T. brucei*).

[1] S. Balasubramanian, L.H. Hurley, S. Neidle, Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy? *Nat Rev Drug Discov.* 2011, 10, 261-275. [2] S. T. G. Street, D. N. Chin, G. J. Hollingworth, M. Berry, J. C. Morales, M. C. Galan. Divalent Naphthalene Diimide Ligands Display High Selectivity for the Human Telomeric G-quadruplex in K^+ Buffer. *Chem. Eur. J.* 2017, 23, 6953-6958.

LA REGIÓN 3'UTR DEL GENOMA DE WNV ES UNA EXCELENTE DIANA PARA EL DESARROLLO DE FÁRMACOS ANTIVIRALES

Sara Esther Ramos-Lorente, Beatriz Berzal-Herranz, Alejandro Jiménez-Sánchez, Cristina Romero-López y Alfredo Berzal-Herranz

RESUMEN: El virus del Nilo Occidental (West Nile virus, WNV) es un miembro del género Flavivirus cuyo ciclo de transmisión tiene lugar entre aves y mosquitos. La infección de humanos, equinos y otros mamíferos se produce de forma accidental a través de la picadura de un mosquito. El calentamiento global y el auge del turismo han provocado que WNV, al igual que otros miembros del género, se haya diseminado por todo el mundo en las últimas dos décadas, provocando brotes infecciosos que han cursado con una alta morbilidad y mortalidad. A pesar de haber sido declarado por la OMS de importancia sanitaria mundial en 1999, se han realizado pocos avances en el desarrollo de vacunas y tratamientos en humanos. Como otros virus RNA, los flavivirus codifican parte de su información genética en dominios estructurales altamente conservados presentes en su genoma que desempeñan funciones esenciales distintas a la codificación de proteínas. Concretamente, la región 3' no traducible (3'UTR) del genoma de WNV actúa como un elemento multivalente que juega un papel clave en la replicación, encapsidación y traducción viral, lo que la convierte en una potencial diana para el desarrollo de tratamientos antivirales específicos. En nuestro laboratorio, hemos observado que la región 3'UTR de WNV es capaz de reclutar la subunidad ribosómica 40S de forma específica en ausencia de otros factores proteicos. Hemos observado que este fenómeno también ocurre en otros flavivirus, por lo que proponemos que se trata de un mecanismo general de regulación de la traducción de los miembros de este género. Mediante el uso de tecnología de interferencia molecular y mapeo estructural, hemos detectado que los elementos SL-III y 3'DB de la región 3'UTR sufren una profunda reorganización estructural como resultado de la unión de la subunidad 40S. Dichos cambios conformacionales podrían constituir la base del efecto potenciador de la traducción mediado por la región 3'UTR que ha sido descrito por varios autores. Además, se ha comprobado que el reclutamiento de 40S depende estrictamente de interacciones RNA-proteína, y que una o más proteínas ribosómicas están íntimamente implicadas en la unión. También proporcionamos una prueba de concepto de que la interferencia del reclutamiento de la subunidad 40S mediante el bloqueo de sus sitios de unión en la región 3'UTR con aptámeros de RNA constituye una potencial estrategia terapéutica frente a WNV. Nuestros hallazgos abren así el camino al desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a motivos estructurales específicos del RNA viral.

EFFECTOS DE UN EXTRACTO DE THYMUS SERPYLLUM EN UN MODELO DE OBESIDAD EN RATONES

María Jesús Rodríguez-Sojo, Antonio Jesús Ruiz-Malagón, Laura Hidalgo-García, José Alberto Molina-Tijeras, Federico García, Ivo Pischel, Miguel Romero, Juan Duarte, Patricia Diez-Echave, María Elena Rodríguez-Cabezas, Alba Rodríguez-Nogales, Julio Gálvez.

RESUMEN: Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad es un problema de salud pública que está asociada con una inflamación subclínica, y se relaciona con otras enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, hiperlipidemia, hipertensión, cáncer, etc. Los cambios en el estilo de vida, como el ejercicio y buenos hábitos dietéticos, tienen un impacto positivo en la obesidad y, en consecuencia, en sus enfermedades relacionadas. Sin embargo, con frecuencia, estas prácticas saludables son difíciles de incorporar a numerosos individuos. Por este motivo, son numerosos los estudios que se han centrado en la búsqueda de tratamientos alternativos que sean seguros y efectivos contra la obesidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un extracto de tomillo (*Thymus serpyllum*) (*Serpylli herba*) en un modelo de obesidad inducida por una dieta enriquecida en grasa. Para ello, se han usado 60 ratones machos C57BL/6J divididos en 6 grupos experimentales: dos alimentados con dieta estándar (SD) y el resto de grupos alimentados con dieta con alto contenido en grasa (HFD). Tres grupos HFD fueron tratados con el extracto (50, 100 y 150 mg/kg al día) durante 10 semanas y a uno de los grupos SD se le administró la dosis máxima del extracto para evaluar un posible efecto tóxico. Los grupos controles (SD y HFD) recibieron el vehículo en el que se administró el extracto. Antes del sacrificio de los animales, se obtuvieron las muestras de sangre para el análisis plasmático de los perfiles lipídico y glucídico, así como para cuantificar los niveles de LPS en plasma. Una vez sacrificados, se obtuvieron distintos tejidos (grasa, hígado y colon) para la caracterización del estado inflamatorio en tejido mediante RT-qPCR, western blot y análisis histológicos. También se recogieron los contenidos intestinales para caracterizar la microbiota intestinal. Los resultados revelaron que la administración del extracto *Serpylli herba* a los ratones obesos redujo la ganancia de peso en comparación con el grupo no tratado, junto con una reducción significativa en el depósito de grasa corporal. El análisis bioquímico en plasma mostró una mejora del perfil glucídico y lipídico en los ratones obesos tratados en comparación con los del grupo control. Estos efectos beneficiosos se corroboraron histológicamente tanto en hígado, con una mejora de la esteatosis, como en el tejido adiposo, por reducción de la hipertrofia y la hiperplasia de los adipocitos que se observa en ratones obesos sin tratar. La expresión proteica en hígado y grasa reveló que el extracto redujo significativamente la expresión de citocinas $Tnf-\alpha$ e $Il-6$, de la quimiocina $Mcp1$, de las quinasas $Jnk-1$ y $Jnk-2$, mientras que incrementa la de los transportadores de glucosa $Glut2$ y $Glut4$, en comparación con los obesos no tratados. Por otro lado, la relación $pAMPK/AMPK$ evaluada por WB, aumentó en el tejido adiposo de ratones tratados con el extracto, que es indicativo de un incremento del catabolismo lipídico. El tratamiento también incrementó la expresión de genes de permeabilidad intestinal como $Zo-1$ y mucinas como $Muc-3$, con mejora de la función de barrera epitelial, que se asoció con la disminución de niveles plasmáticos de LPS en plasma de ratones tratados con respecto al grupo obeso no tratado y, en consecuencia, con una reducción del estado inflamatorio asociado a la obesidad. Por último, la administración de *Serpylli herba* a los ratones obesos promovió una restauración de la disbiosis intestinal que caracterizaba al grupo obeso control. En conclusión, la administración de *Serpylli herba* tiene efectos beneficiosos en ratones obesos, que se manifiestan con la disminución de la acumulación de grasa corporal, la reducción del estado antiinflamatorio sistémico asociado a la obesidad y mejora de la composición de la microbiota intestinal; por tanto, este extracto podría constituir un posible tratamiento en el tratamiento de la obesidad y sus complicaciones asociadas.

CD38 DEFICIENCY AMELIORATES CHRONIC GRAFT VERSUS HOST DISEASE MURINE LUPUS VIA A B-CELL DEPENDENT MECHANISM

África Martínez-Blanco; Marilú Domínguez-Pantoja; María Botía-Sánchez; Sonia Pérez-Cabrera; Nerea Bello-Iglesias; Paula Carrillo-Rodríguez; Natividad Martín-Morales; Antonio Lario-Simón; María M. Pérez-Sánchez-Cañete; Laura Montosa-Hidalgo; Salvador Guerrero-Fernández; Victoria M. Longobardo-Polanco; Sandra Redondo-Sánchez; Alberto Cornet-Gómez; María Torres-Sáez; Ana Fernández-Ibáñez; Laura Terrón-Camero; Eduardo Andrés-León; Francisco O'Valle Ravassa; Ramón Merino; Mercedes Zubiaur; Jaime Sancho.

RESUMEN: Absence of mouse cell surface receptor CD38 in Cd38^{-/-} mice suggests that this receptor acts as positive regulator of inflammatory and autoimmune responses. Here we report that in the setting of a chronic graft versus host disease (cGVHD) lupus model induced by the transfer of B6.C-H2bm12/KhEg (bm12) spleen cells into co-isogenic Cd38^{-/-} B6 mice causes milder lupus-like autoimmunity with lower levels of anti-ssDNA autoantibodies than the transfer of bm12 spleen cells into WT B6 mice. In addition, significantly lower percentages of Tfh cells, as well as GC B cells, plasma cells and T-bet+CD11chi B cells are observed in Cd38^{-/-} mice than in WT mice, while the expansion of Treg cells, and Tfr cells is normal, suggesting that the ability of Cd38^{-/-} B cells to respond to allogeneic help from bm12 CD4⁺ T cells is greatly diminished. The frequencies of T-bet+CD11chi B cells, which are considered the precursors of the autoantibody secreting cells, correlate with anti-ssDNA autoantibody serum levels, with IL-27, and sCD40L. Proteomics profiling of spleens from WT cGVHD mice reflects a STAT1-driven type I IFN-signature, which is absent in Cd38^{-/-} cGVHD mice. Kidney, spleen and liver inflammation was mild and resolved faster in Cd38^{-/-} cGVHD mice than in WT cGVHD mice. We conclude that in B cells CD38 functions as a modulator receptor that controls autoimmune responses. Proteomic Data are available via ProteomeXchange with identifier PXD026947.

PAPEL DE LA ENZIMA FOSFATASA ALCALINA NO ESPECÍFICA DE TEJIDO (TNAP) EN EL EPITELIO INTESTINAL EN LA INFLAMACIÓN

Mireia Tena-Garitaonaindia, Samir Cordova, Diego Ceacero-Heras, Fermín Sánchez de Medina, Olga Martínez Augustin.

RESUMEN: La fosfatasa alcalina (AP) es una familia de enzimas que ha sido relacionada con la protección frente a inflamación intestinal. Se ha descrito que una de sus isoformas, la fosfatasa alcalina intestinal (IAP), es capaz de desfosforilar diferentes antígenos bacterianos, de tal forma que la enzima regula el crecimiento de la microbiota e impide el paso de antígenos activos. En cuanto a la isoforma TNAP, se ha observado que su expresión se encuentra incrementada en la colitis experimental, no solo debido a la infiltración de células del sistema inmunológico, sino también por el incremento de expresión de esta enzima en las células del epitelio intestinal. A pesar de que los estudios sugieren que tiene un papel importante en la inflamación, se desconoce el papel específico de la TNAP en el intestino. Por ello, se ha generado un modelo de ratón con delección condicional inducible del gen que codifica TNAP (Alpl) en el epitelio intestinal (ratones AlplIEC^{-/-}). El fenotipo en condiciones basales fue aparentemente normal. El silenciamiento específico de TNAP en IECs en inflamación por DSS (7 días) supuso una pérdida mayor de peso en los ratones, sin observarse diferencias en el índice de actividad de la enfermedad (DAI). A nivel histológico se observó un mayor nivel de infiltración en la submucosa en el colon de los ratones sin TNAP. Los ratones AlplIEC^{-/-} presentaron una expresión reducida de marcadores inflamatorios en el colon, como S100a8, Il6 y Tnf. Por el contrario, la deficiencia en TNAP en el epitelio intestinal supuso un aumento en la expresión de la fosfatasa alcalina intestinal global (Akp6) en el colon, sugiriendo que podría existir algún mecanismo de compensación. Por lo tanto, los ratones AlplIEC^{-/-} presentan un fenotipo mixto, con mayor infiltración y daño histológico pero menor expresión de marcadores inflamatorios en la colitis por DSS.

LA MINOCICLINA MEJORA EL DOLOR ASOCIADO A LA INFLAMACIÓN EN LA COLITIS EXPERIMENTAL INDUCIDA POR DSS EN RATONES

Teresa Vezza, José Alberto Molina-Tijeras, Rafael González-Cano, Alba Rodríguez-Nogales, Federico García, Julio Gálvez, Enrique J. Cobos.

RESUMEN: La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) incluye principalmente la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU), que son afecciones inflamatorias crónicas remitentes o progresivas que afectan el tracto gastrointestinal. Los síntomas más destacados de la EII incluyen diarrea, sangrado rectal, pérdida de peso, fiebre, dolor abdominal y fatiga. Entre estos, el dolor abdominal es uno de los síntomas más frecuentes (afecta a alrededor del 50% al 70% de los pacientes) y más debilitantes. El uso de antibióticos inmunomoduladores que permitiera actuar simultáneamente frente a diferentes factores relacionados con el proceso inflamatorio intestinal es una estrategia farmacológica interesante pero poco estudiada. El objetivo del presente estudio fue evaluar si los efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios de la minociclina (MNC) en un modelo experimental de colitis de ratón se asociaron con la mejora del dolor asociado a esta situación, y avanzar en el papel que la microbiota intestinal puede tener en estos procesos. Para ello se utilizaron ratones C57BL/6J machos que se dividieron aleatoriamente en 4 grupos experimentales: 2 grupos no colíticos (tratado y no tratado con MNC ((50 mg/kg)) y 2 grupos colíticos (tratado y no tratado con MNC). El tratamiento empezó el mismo día de la inducción del daño colónico inducido por la incorporación de sulfato de dextrano sódico (DSS) en el agua de bebida (3% p/v). Durante el experimento, los ratones se colocaron individualmente en una jaula con acceso libre a una rueda conectada a un sistema para registrar la distancia recorrida (m) y en donde se pudieron codificar las expresiones faciales. La hipersensibilidad sensorial de la región abdominal se evaluó mediante la prueba de los filamentos de von Frey. El estado inflamatorio se evaluó mediante un índice de actividad de la enfermedad (DAI) en el curso del experimento. Transcurridos 9 días de tratamiento, se sacrificaron todos los ratones, procediendo a la evaluación en el tejido colónico de distintos marcadores inflamatorios y de integridad de barrera mediante qPCR. Por otra parte, se llevó a cabo el estudio de la disbiosis de la microbiota intestinal que caracteriza la colitis, y los posibles cambios inducidos por el tratamiento. La administración de MNC tuvo un efecto beneficioso en ratones sometidos a inflamación intestinal, tal y como se evidenció por los valores más bajos de DAI en el grupo colítico que recibió el tratamiento frente a los correspondientes controles. Esto se corroboró bioquímicamente, dado que se observó una disminución de la expresión de marcadores inflamatorios como $IL1\beta$, $Tnf\alpha$, $iNOS$ y $Cox2$. El tratamiento también mejoró la integridad del epitelio intestinal al aumentar la expresión de mucinas ($Muc2$ y $Muc3$) y proteínas de unión intercelular ($Ocln$ y $Zo1$), lo que resultó en una reducción de la permeabilidad intestinal. Asimismo, el tratamiento se asoció con una restauración de la disbiosis intestinal asociada al proceso inflamatorio intestinal. Por otra parte, la actividad motora de los animales colíticos tratados con MNC se vio mejorada al incrementar la distancia total recorrida en comparación con los animales del grupo colítico control. El tratamiento con MNC en los ratones colíticos se asoció con una menor hipersensibilidad sensorial cutánea en el abdomen, medida mediante el umbral de von Frey, así como por una disminución de las expresiones faciales de dolor de los animales, indicando un menor dolor espontáneo. En conclusión, este estudio confirma la actividad antiinflamatoria intestinal de la MNC, derivada de sus propiedades inmunomoduladoras y protectoras de la función de barrera intestinal, la cual se asocia con una restauración de la composición de la microbiota intestinal y la mejora del dolor abdominal que caracteriza a la enfermedad inflamatoria intestinal, lo que avala el potencial uso de este antibiótico inmunomodulador en el manejo de esta enfermedad.

Charla

SESIÓN 3.

Enfermedades inflamatorias e infecciosas

Día 1

9 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

PROGRAMA IIMENA: INTEGRACIÓN DE LA BIOINFORMÁTICA Y LA INGENIERÍA METABÓLICA EN EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

Olga Genilloud

RESUMEN:



PONENCIAS

1. CRISPNA, una herramienta de edición genómica y diagnóstico
2. Biomateriales a base de grafeno para la estimulación neuronal
3. Mejora de los métodos de cultivo celular para la generación de cultivos primarios de queratinocitos humanos utilizando nanopartículas lipídicas nanoestructuradas con EGF
4. Generación y caracterización ex vivo de aloinjertos nerviosos acelulares entrecruzados con genipina
5. Desarrollo de nuevos sistemas tubulares biomiméticos para la regeneración de mucosa urotelial mediante técnicas de ingeniería tisular
6. Importancia de la funcionalización de las partículas magnéticas en la preparación de hidrogeles magnéticos con aplicaciones biomédicas
7. Desarrollo de células CAR-T regulables de 4ª generación (iTRUCKs) para el tratamiento de tumores sólidos pancreáticos
8. Nanodispositivos poliméricos para la entrega selectiva de fármacos en sistemas de cocultivo celular
9. Desarrollo de biotintas autólogas basadas en matriz descelularizada con aplicación en ingeniería de tejidos cutáneos
10. Cartílago de esturión como un nuevo biomaterial en ingeniería tisular
11. Nuevos sustitutos de limbo esclerocorneal mediante tejidos descelularizados
12. Desarrollo de vectores lentivirales regulados que mimetizan el comportamiento fisiológico del TCR para la optimización de la inmunoterapia antitumoral con células CAR-T
13. Traslación clínica de nuevos medicamentos de terapias avanzadas generados mediante ingeniería tisular
14. Nuevos avances y retos en la inmunoterapia contra el cáncer
15. Hacia una nueva generación de células CAR-T reciclando sus señales intracelulares inmunológicas

CRISPNA, UNA HERRAMIENTA DE EDICIÓN GENÓMICA Y DIAGNÓSTICO

Araceli Aguilar-González (1,2), Noelia Maldonado-Pérez(1), Iris Ramos-Hernández(1), Francisco Javier Molina Estévez(1), Juan José Díaz Mochón(1,2,3), Rosario María Sánchez-Martín(1,2), Francisco Martín(1).*

1. Departamento de Medicina Genómica. GENYO, Centro de Investigación Genómica e Oncológica, Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía, Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Av. de la Ilustración 114, 18016 Granada, España. 2. Departamento de Química Médica y Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus Cartuja, 18071 Granada, España. 3. DestiNA Genomica S.L. Parque Tecnológico Ciencias de la Salud (PTS), Armilla, Granada, España.

RESUMEN: El sistema CRISPR/Cas es una tecnología poderosa que está cambiando la forma en que los científicos abordan problemas no resueltos en biología básica, terapia y diagnóstico. Los diferentes sistemas CRISPR/Cas requieren moléculas de ARN (crRNA o sgRNA) para dirigir las diferentes proteínas Cas a sus dianas de ADN o ARN. A pesar de su potencia y especificidad, las moléculas de ARN son inestables y pueden permitir uniones inespecíficas al unirse a su diana. Los ácidos nucleicos peptídicos (PNA) son oligonucleótidos sintéticos que muestran una mayor afinidad por el ADN y el ARN complementarios que los oligonucleótidos normales. Por lo tanto, las uniones PNA-ARN y PNA-ADN son más estables y específicas que las de ARN-ADN. Además, su esqueleto peptídico sin carga hace que los PNA sean muy estables en fluidos biológicos debido a su resistencia a las proteasas y nucleasas. Por lo tanto, proponemos CRISPNA como una nueva herramienta que combina la versatilidad de las enzimas asociadas a CRISPR (Cas) con la robustez, estabilidad y especificidad de las PNA para generar la tecnología CRISPNA. En este trabajo, hemos diseñado varios PNA (denominados crPNA) para diferentes secuencias diana (TCR, eGFP y SARS-CoV-2) manteniendo el tamaño de los crRNA naturales del sistema CRISPR (Cas9 y Cas13). Hemos observado formaciones del complejo al incubar crPNA, tracrRNA y Cas9 o Cas13, lo que indica la viabilidad del concepto CRISPNA. Es importante destacar que también demostramos que el complejo Cas9-CRISPNA puede unirse específicamente a su secuencia diana de ADN, como lo demuestra el ensayo de cambio de movilidad electroforética (EMSA). Además, los experimentos preliminares indican que la nucleofección del complejo CRISPNA es capaz de editar el genoma de las células eucariotas, aunque con baja eficacia (3-8%). En resumen, proponemos aquí la prueba de concepto de la tecnología CRISPNA como una alternativa potencial al sistema CRISPR para algunas aplicaciones de edición y diagnóstico del genoma.

BIOMATERIALES A BASE DE GRAFENO PARA LA ESTIMULACIÓN NEURONAL

Matteo Moschetta, Andrea Capasso, Mattia Bramini

RESUMEN: El interés emergente hacia la aplicación de nanomateriales para la administración de fármacos y genes, imágenes biomédicas y biosensores de diagnóstico dentro del sistema nervioso central (SNC) llevó a los neurocientíficos a centrarse en los efectos de la interacción de nanoestructuras en contacto con los sistemas neuronales. En este trabajo daré una visión general de los estudios que hemos realizado en los últimos años sobre el impacto del grafeno en neuronas primarias y astrocitos. Se presentarán estudios sobre los mecanismos moleculares de la bio-interacción de flakes de grafeno con las neuronas primarias y las células gliales, junto con las posibles respuestas inflamatorias (1-3), y la posibilidad de usar film grafeno 2D como soportes biocompatibles para aplicaciones biomédicas y regeneración celular (5,6). El objetivo final es explotar las propiedades conductoras del grafeno para modular y controlar la actividad de las redes neuronales que crecen en estrecho contacto con tales estructuras (centrándose tanto en la nanomedicina como en las características de nano- seguridad).

[1] Bramini et al., Graphene Oxide Nanosheets Disrupt Lipid Composition, Ca(2+) Homeostasis, and Synaptic Transmission in Primary Cortical Neurons, *ACS Nano*, 10 (7), 7154-71, 2016 [2] Chiacchiarretta, Bramini et al., Graphene Oxide Upregulates the Homeostatic Functions of Primary Astrocytes and Modulates Astrocyte-to-Neuron Communication, *Nano Lett*, 18 (9), 5827-5838, 2018 [3] Bramini, Chiacchiarretta et al., An Increase in Membrane Cholesterol by Graphene Oxide Disrupts Calcium Homeostasis in Primary Astrocytes, *Small*, 5 (15), e1900147, 2019 [4] Moschetta et al., Hydrogenated Graphene Improves Neuronal Network Maturation and Excitatory Transmission. *Adv Biol (Weinh)*. 5(1):e2000177, 2021 [5] Moschetta et al., Graphene Nanoplatelets Render Poly(3-Hydroxybutyrate) a Suitable Scaffold to Promote Neuronal Network Development. *Front Neurosci*. 15:731198, 2021

MEJORA DE LOS MÉTODOS DE CULTIVO CELULAR PARA LA GENERACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE QUERATINOCITOS HUMANOS UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS NANOESTRUCTURADAS CON EGF

Jesús Chato-Astrain, David Sánchez-Porras, Óscar Darío García-García, Cristina Blanco-Elices, Olimpia Ortiz-Arrabal, Fernando Campos, Ingrid Garzón, Miguel Alaminos

RESUMEN: Los medicamentos de terapias avanzadas (MTA) ofrecen nuevas y revolucionarias oportunidades para el tratamiento de enfermedades y lesiones. Un medicamento generado por técnicas de ingeniería tisular, que ha sido aprobado para su uso clínico en España como uso compasivo para pacientes grandes quemados, es el modelo de piel bioartificial UGRSKIN. UGRSKIN consiste en una capa epidérmica cultivada en la superficie de un sustituto dérmico, y requiere el establecimiento de cultivos de células estromales y epiteliales. Se han descrito varios métodos para generar eficientemente cultivos de queratinocitos de piel. Sin embargo, los queratinocitos humanos suelen mostrar bajas tasas de proliferación, y el establecimiento de cultivos celulares abundantes suele requerir períodos de tiempo prolongados. Aunque los métodos actuales son eficaces, es necesario optimizarlos para acelerar el procedimiento y obtener estos sustitutos en un menor tiempo para conseguir un cierre rápido y eficaz de las lesiones cutáneas de estos pacientes. Es por ello por lo que, en el presente estudio, evaluamos el efecto de nuevas formulaciones de medio de cultivo queratinocítico basados en la incorporación de nanopartículas lipídicas nanoestructuradas (NLC) cargadas con el factor de crecimiento epidérmico (EGF). En primer lugar, comprobamos los requisitos básicos de bioseguridad de las NLC-rhEGF para su uso en cultivos celulares en queratinocitos inmortalizados de piel y en células epiteliales de la córnea, así como en dos líneas celulares de cáncer epitelial, mediante la cuantificación del ADN liberado al medio de cultivo. A continuación, establecimos cultivos celulares primarios de queratinocitos de piel humana mediante los dos métodos principales para generar cultivos de queratinocitos de piel: el aislamiento celular por digestión enzimática y la técnica del explante, a los que incorporamos medio de cultivo basal (MB) y MB suplementado con NLC-rhEGF, EGF líquido (L-rhEGF), o NLC vacío (NLC-blanco). Los resultados mostraron que las células aisladas por digestión enzimática y cultivadas con o sin capa de alimentación tenían una tasa de crecimiento similar independientemente del medio utilizado. Sin embargo, la técnica del explante mostró una mayor eficacia cuando se utilizó el medio de cultivo NLC-rhEGF, en comparación con el BM, L-rhEGF o NLC-blanco. El análisis de la expresión génica mostró además que las NLC-rhEGF fueron capaces de aumentar la expresión del gen EGFR, junto con la de otros genes relacionados con las citoqueratinas, las uniones célula-célula y la maduración y diferenciación de los queratinocitos. En resumen, este estudio es el primero en describir la generación de un método capaz de reducir el tiempo necesario para generar cultivos celulares primarios de queratinocitos con la técnica del explante. Dadas las ventajas de los métodos de explante en comparación con la digestión enzimática, nuestros resultados apoyan la aplicación del primer enfoque en combinación con las NLC-rhEGF en los protocolos diseñados para aislar cultivos primarios de queratinocitos humanos para la generación de MTA por ingeniería tisular.

Este estudio fue financiado por el proyecto NanoGSkin de EuroNanoMed-III (ERA-NET Cofund action of the Horizon 2020 Research and Innovation Framework Programme, EU), y cofinanciado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través de AES 2017 (ref. AC17/00013) y el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) (ref. 00108589), Ministerio de Ciencia e Innovación de España. También se financió a través de los proyectos PE-0395-2019 de la Consejería de Salud y Familias, Junta de Andalucía, España, y B-CTS-450-UGR20 (proyectos de I+D+i en el marco del Programa Operativo FEDER Andalucía 2014-2020, Universidad de Granada y Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades). Se ha contado con el apoyo del Plan Nacional de Investigación.

GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN EX VIVO DE ALOINJERTOS NERVIOSOS ACELULARES ENTRECruzADOS CON GENIPINA

Óscar Darío García-García (1,2,3), Marwa El Soury (1,4), David González-Quevedo (1,5), David Sánchez-Porras (1,2), Jesús Chato-Astrain (1,2), Miguel Ángel Martín-Piedra (1,2), Miguel Alaminos (1,2), Fernando Campos (1,2), Víctor Carriel (1,2).*

1. Grupo de Ingeniería Tisular, Dpto. de Histología, Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España. 3. Programa de Doctorado en Biomedicina, Universidad de Granada, Granada, España. 4. Departamento de Ciencias Clínicas y Biológicas, Universidad de Turín, Orbassano, Italia. 5. Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, España.

RESUMEN: Los aloinjertos nerviosos acelulares (ANA) representan una alternativa prometedora en la reparación de lesiones de nervios periféricos. Sin embargo, todo proceso de descelularización puede conllevar una alteración de las características de la matriz extracelular resultante, pudiendo llegar a comprometer las propiedades estructurales, biomecánicas y/o biológica de los mismos. Por ello, surge la necesidad de buscar estrategias que contrarresten los posibles efectos adversos citados durante la descelularización, como puede ser el entrecruzamiento químico. El presente estudio tuvo como objetivo investigar los efectos del agente entrecruzante natural genipina (GP) en dos concentraciones diferentes (0,10 y 0,25%) sobre las propiedades histológicas, ultraestructurales, biomecánicas y de biocompatibilidad de los nervios descelularizados mediante dos métodos diferentes, los protocolos de Sondell (SD) [1] y Roosens (RS)[2]. Los nervios descelularizados no entrecruzados y los nervios nativos fueron utilizados como controles. La histología confirmó las diferencias generadas entre ambos procedimientos SD y RS, pero la GP no indujo cambios notables, lo que ayudó a preservar el patrón histológico del nervio. La prueba de tracción reveló que la GP mejoró las propiedades biomecánicas de los ANAs generados con ambos métodos de descelularización (SD y RS), siendo los ANAs de RS entrecruzados más comparables a los nervios nativos utilizados como control. La evaluación de la biocompatibilidad de los ANAs realizada con células madre mesenquimales derivadas del tejido adiposo cultivadas en la superficie de los ANAs confirmó un alto grado de biocompatibilidad en todos los ANAs, especialmente en los ANAs RS y RS-GP0,10%. Finalmente, este estudio demuestra que el uso de GP podría ser una alternativa eficiente para mejorar las propiedades biomecánicas de los ANAs con un ligero impacto en la biocompatibilidad y el patrón histológico. Por estas razones, planteamos la hipótesis de que nuestros nuevos ANAs entrecruzados con GP podrían ser una alternativa adecuada para futuros estudios preclínicos in vivo.

[1] Sondell, M., G. Lundborg, and M. Kanje, Regeneration of the rat sciatic nerve into allografts made acellular through chemical extraction. *Brain Res*, 1998. 795(1-2): p. 44-54. [2] Chato-Astrain, J., et al., Detergent-based decellularized peripheral nerve allografts: An in vivo preclinical study in the rat sciatic nerve injury model. *J Tissue Eng Regen Med*, 2020. 14(6): p. 789-806.

Financiación: Con el apoyo de las becas FIS PI17/393 y PI20/318, Ministerio de Ciencia e Innovación e Innovación (Instituto de Salud Carlos III), cofinanciadas por FEDER; subvención P18-RT-5059 de la Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad, Junta de Andalucía, España; y la subvención A-CTS-498-UGR18, Programa Operativo FEDER Andalucía 2014-2020 y Universidad de Granada, España.

DESARROLLO DE NUEVOS SISTEMAS TUBULARES BIOMIMÉTICOS PARA LA REGENERACIÓN DE MUCOSA UROTELIAL MEDIANTE TÉCNICAS DE INGENIERÍA TISULAR

Ingrid Garzón (1,2), Cristina Blanco-Elices (1,2), Jesús Chato Astrain (1,2), Fernando Campos Sánchez (1,2), David Sánchez Porras (1,2), Oscar García García (1,2), Olimpia Ortiz Arrabal (1,2), Vicente Crespo Ferrer (1,2), José Manuel García López (1,2), Miguel Alaminos (1,2).

1. Department of Histology (Tissue Engineering Group), University of Granada, Spain. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Spain.

RESUMEN: Los avances recientes en Ingeniería Tisular del aparato urinario han permitido la generación de sustitutos biológicos de la mucosa urotelial con el objetivo de restaurar la función de los órganos y tejidos urológicos afectados por diversas patologías. Sin embargo, la mayoría de los sustitutos biológicos creados en el laboratorio hasta el momento, requieren grandes cantidades de células con gran capacidad de proliferación y diferenciación en un periodo limitado de tiempo, siendo este, un factor limitante en el proceso de biofabricación y traslación clínica. En el presente trabajo, se ha diseñado un nuevo sustituto biológico tubular utilizando células madre de la Gelatina de Wharton (HWJSC) como fuente celular alternativa para su uso potencial en cirugía urológica. Metodológicamente se generaron biomateriales naturales de morfología tubular a base de fibrina y agarosa mediante técnicas de compresión plástica. En el biomaterial biológico se cultivaron fibroblastos de la mucosa urotelial en una densidad celular de 500.000 células. Una vez desarrollados los sustitutos estromales de mucosa urotelial, 250.000 HWJSC fueron cultivadas sobre la superficie estromal. Con el objetivo de promover la inducción epitelial, tres medios de diferenciación fueron utilizados: 1. medio de cultivo basal de HWJSC; 2. medio de diferenciación epitelial; 3. medio de cultivo pre-condicionado durante 7 y 14 días de cultivo in vitro. Los resultados del presente trabajo de investigación revelaron que el método de compresión plástica fue eficiente para lograr una estructura tubular biomimética con el aparato urinario nativo. Así mismo, el proceso de inducción epitelial de las HWJSC mostró la presencia de estratificación usando el medio de diferenciación epitelial tal y como ocurre en el tejido urotelial. A nivel funcional se demostró la expresión de proteínas de la matriz extracelular del estroma de mucosa urotelial. Así como, la expresión de proteínas de diferenciación epitelial después de 14 días de desarrollo in vitro. Los hallazgos del presente trabajo, ponen de relieve el potencial de diferenciación de las HWJSC y su potencial uso en biofabricación de tejidos artificiales mediante Ingeniería Tisular para la traslación clínica.

IMPORTANCIA DE LA FUNCIONALIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS MAGNÉTICAS EN LA PREPARACIÓN DE HIDROGELES MAGNÉTICOS CON APLICACIONES BIOMÉDICAS

Cristina Gila-Vilchez, Mariusz Barczak, Miguel Alaminos, Modesto T. Lopez-Lopez

RESUMEN: La correcta funcionalización de las partículas magnéticas es de vital importancia en tanto en cuanto permite modular las interacciones entre ellas y los filamentos poliméricos que forman los hidrogeles, teniendo un impacto directo en las propiedades finales de los mismos [1]. Además, las partículas magnéticas con una superficie química adecuada pueden conjugar fármacos, proteínas, enzimas o anticuerpos, lo cual se requiere en numerosas aplicaciones biomédicas. Como puede comprobarse en la bibliografía más representativa sobre hidrogeles magnéticos, las partículas magnéticas se usan generalmente tal y como se reciben, es decir, sin ninguna funcionalización. Sin embargo, además del hierro que compone las partículas y que proporciona la activación del campo magnético, la superficie de las mismas se puede utilizar para crear interacciones con los hidrogeladores [2], que a su vez pueden afectar a las propiedades finales de los hidrogeles resultantes e incluso proporcionar más características favorables, como una mejor adhesión de especies biológicas (por ejemplo, células). Sin embargo, en la bibliografía se encuentran pocos intentos de funcionalizar químicamente las partículas magnéticas utilizando grupos distintos de las aminas [2]. En este trabajo [3] se determinó el papel que juega la funcionalización de la superficie de partículas de hierro en las propiedades finales de hidrogeles magnéticos de alginato. Para ello, se tomaron como punto de partida partículas de hierro micrométricas recubiertas por una capa de sílice. Estas partículas control se funcionalizaron posteriormente con diferentes grupos funcionales que incluían hidroxilo, amina, glicidoxi, fenilo y tiocianato; siendo muchas de estas modificaciones novedosas ya que se presentaron en este trabajo por primera vez. Las distintas funcionalizaciones afectaron a la interacción química entre la matriz polimérica del hidrogel y la superficie de las partículas de hierro de manera diferente, contribuyendo a la aparición de diversas microestructuras, y propiedades mecánicas y de biocompatibilidad de los hidrogeles resultantes. Por tanto, estos resultados se pueden utilizar para ajustar las propiedades de hidrogeles basados en carbohidratos.

[1] A. B. Bonhome-Espinosa et al. 2017 *Soft Matter* 13(16), 2928–2941. [2] E. Tanasa et al. 2019 *Nanomaterials* 9(10), 1384. [3] M. Barczak et al. 2020 *Carbohydrate Polymers* 247, 116747.

Agradecimientos: Proyecto PID2020-118498GB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (España). Ayuda FPU17/00491 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FSE "El FSE invierte en tu futuro" y por la Universidad de Granada.

DESARROLLO DE CÉLULAS CAR-T REGULABLES DE 4ª GENERACIÓN (ITRUCKS) PARA EL TRATAMIENTO DE TUMORES SÓLIDOS PANCREÁTICOS

Pedro Justicia Lirio, María Tristán Manzano, Noelia Maldonado Pérez, Marina Cortijo Gutiérrez, Carlos Blanco Benítez, María Castilla, Manel Juan, Francisco Martín

RESUMEN: Las células CAR-T (del inglés Chimeric Antigen Receptor) han demostrado un éxito sin precedentes en el tratamiento de neoplasias hematológicas avanzadas. Sin embargo, su eficacia en el tratamiento de tumores sólidos sigue siendo inferior al 5%, debido a la heterogeneidad de la expresión del antígeno sobre la superficie del tumor, a la incapacidad de las células CAR-T para infiltrarse en el tumor por el efecto inhibidor del microambiente tumoral (en inglés Tumor Microenvironment, TME) y por no poder sobrevivir el tiempo suficiente. Un enfoque para superar estas limitaciones es la coexpresión de receptores de quimioquinas, moléculas inmunoestimuladoras y/o genes implicados en la supervivencia/stemness. Sin embargo, la expresión continua de estas moléculas puede causar efectos secundarios excesivamente agresivos en pacientes. Otra forma de aumentar la potencia/supervivencia de las células CAR-T es expresar el CAR de forma fisiológica, siguiendo la cinética de expresión del TCR. La tecnología AW ha demostrado previamente la capacidad de mejorar el fenotipo y el agotamiento de las células CAR-T mediante la expresión fisiológica de la CAR en un modelo de linfoma, mientras que la plataforma Lent-On-Plus (LOP) es un sistema de control de expresión génica libre de transactivadores capaz de regular la expresión de cualquier gen utilizando dosis mínimas de doxiciclina. Aquí combinamos la expresión de un CAR frente a CD19 a través del promotor AW y la coexpresión de IL-18, ya sea de forma constitutiva o a través del sistema inducible LOP, para generar los primeros TRUCKs e ITRUCKs bajo el promotor AW. Observamos que la secreción de IL-18 por parte de las células CAR-T se correlaciona con un aumento de la actividad citotóxica in vitro frente a un modelo heterogéneo de adenocarcinoma pancreático ductal agresivo (KRAS/p53/p16-mutado) que expresa artificialmente CD19. Cabe destacar que, en comparación con los TRUCKs - IL-18 bajo el promotor EF1a, los TRUCKs-IL-18 bajo el promotor AW no sólo mejoraron la capacidad citotóxica específica, sino que también mostraron una mayor proporción de células T stem/memoria. Estos datos sugieren que la combinación de las tecnologías AW y LOP podría ser una plataforma interesante para desarrollar ITRUCKs más eficientes y seguros para el tratamiento de tumores sólidos agresivos.

NANODISPOSITIVOS POLIMÉRICOS PARA LA ENTREGA SELECTIVA DE FÁRMACOS EN SISTEMAS DE COCULTIVO CELULAR

Jose Antonio Laz-Ruiz, Maria Victoria Cano-Cortes, Patricia Altea-Manzano, Juan Diego Unciti-Brochetta, Francisco Javier Lopez-Delgado, Jose Manuel Espejo-Roman, Juan Jose Diaz-Mochon and Rosario M. Sanchez-Martin

RESUMEN: En este trabajo, presentamos el desarrollo de un nanodispositivo versátil, robusto y estable para el direccionamiento activo y entrega selectiva de fármacos. Este nanotransportador se basa en nanopartículas poliméricas bifuncionalizadas con un anticuerpo monoclonal que permite el direccionamiento activo de (i) un fluoróforo para seguimiento o (ii) un fármaco para monitorear respuestas celulares específicas. Este nanodispositivo puede discriminar eficazmente entre células en cocultivo en función de los niveles de expresión de los receptores de la superficie celular. Como prueba de concepto, hemos demostrado una entrega eficiente utilizando un receptor de superficie celular ampliamente establecido como objetivo, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que está sobreexpresado en varios tipos de cánceres. Además, se llevó a cabo con éxito una segunda validación de este nanodispositivo utilizando otro receptor de superficie celular, el cluster de diferenciación 147 (CD147). Nuestros resultados sugieren que este nanotransportador versátil se puede expandir a otros receptores celulares y cargas bioactivas, ofreciendo una notable eficiencia de discriminación entre células con diferentes niveles de expresión de un marcador específico. Este trabajo apoya la capacidad de las nanoplataformas para impulsar y mejorar el progreso hacia la medicina personalizada.

DESARROLLO DE BIOTINTAS AUTÓLOGAS BASADAS EN MATRIZ DESCELULARIZADA CON APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS CUTÁNEOS

Julia López de Andrés, Ana Voltes Martínez, Gema Jiménez, Elena López Ruiz, Ana Fernández, Antonio Manuel Lizana Moreno, Salvador Arias Santiago y Juan Antonio Marchal**

RESUMEN: El uso de la matriz extracelular descelularizada (dMEC) como biomaterial ha supuesto un paso adelante en la generación de sustitutos tisulares funcionales. Los cultivos primarios derivados de pacientes proporcionan una fuente de MEC que permite recapitular la estructura, los componentes y la funcionalidad del tejido nativo, personalizada para cada paciente. Por otro lado, el avance de las tecnologías de bioimpresión 3D ha permitido la personalización y automatización de la generación de estos sustitutos tisulares. En este proyecto hemos desarrollado diferentes biotintas basadas en dMEC obtenidas a partir de células madre mesenquimales (MSCs), fibroblastos (FBs) y MSCs diferenciadas a adipocitos aisladas de muestras de donantes, para replicar en sustitutos de piel las principales capas del tejido nativo.

CARTÍLAGO DE ESTURIÓN COMO UN NUEVO BIOMATERIAL EN INGENIERÍA TISULAR

Olimpia Ortiz Arrabal, Ramón Carmona, Óscar Darío García García, Jesús Chato Astrain, David Sánchez Porras, Víctor Carriel, Antonio Campos y Miguel Alaminos

RESUMEN: El cartílago humano es un tejido que presenta baja capacidad de regeneración tras lesiones traumáticas, degeneración asociada a la edad o enfermedades autoinmunes, entre otras causas. Por este motivo, la reparación de los daños producidos en el cartílago constituye un problema común para los traumatólogos. La ingeniería tisular presenta una buena alternativa en este caso ya que posibilita la obtención de un sustituto para el cartílago dañado a través de la utilización de biomateriales en combinación con células humanas. Entre los biomateriales que se utilizan se encuentran aquellos obtenidos mediante la descelularización de productos naturales, debido a que ofrecen una alta biocompatibilidad y capacidad de remodelación del tejido a reparar. En este estudio, se ha llevado a cabo la descelularización del cartílago del esturión (*Acipenser naccarii*) y su posterior recelularización con cuatro tipos de células madre mesenquimales humanas (procedentes del tejido adiposo, de la médula ósea, de la gelatina de Wharton y de la pulpa dental) y con condrocitos humanos para su evaluación *ex vivo* e *in vivo* como posible sustituto del cartílago humano. Se observó que este tejido parece tener una estructura y función parecidas al cartílago humano y, además, esa estructura fue capaz de preservarse de manera adecuada gracias al protocolo de descelularización empleado. Los resultados *ex vivo* mostraron que el cartílago de esturión descelularizado favorece la adhesión celular, así como también la proliferación. El análisis *in vivo* reveló que los sustitutos implantados eran seguros para los animales y estables a lo largo del tiempo. Además, las células madre mesenquimales presentes en estos sustitutos eran capaces de remodelar la matriz extracelular, aumentando la cantidad de colágeno tipo II entre otros componentes, siendo especialmente visible cuando se recelularizaba con células mesenquimales derivadas del tejido adiposo. Los sustitutos generados también son capaces de desencadenar una reacción pro-regenerativa mediada por macrófagos M2. Estos resultados preliminares sugieren que el cartílago de esturión descelularizado puede emplearse para generar sustitutos artificiales con diferentes tipos celulares, pero se requieren más estudios para poder conocer su verdadero potencial para la traslación a la clínica.

Financiación: Este estudio ha sido apoyado por el Plan Nacional Español de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+i) del Ministerio Español de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III), Subvención FIS PI20/0317, y cofinanciado por fondos FEDER de la Unión Europea y por la subvención PI-0257-2017 de la Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía.

NUEVOS SUSTITUTOS DE LIMBO ESCLEROCORNEAL MEDIANTE TEJIDOS DESCELULARIZADOS

David Sánchez-Porras, Manuel Caro-Magdaleno, Carmen González-Gallardo, Óscar Darío García-García, Ingrid Garzón, Víctor Carriel, Fernando Campos y Miguel Alaminos

RESUMEN: Se denomina limbo esclerocorneal (LE) a la transición entre el tejido escleral y el corneal. Esta región es crucial en el mantenimiento de la estructura, función y homeostasis de la córnea. Está formado por una estructura 3D en forma de criptas altamente compleja, donde se localizan las empalizadas de Vogt, estructuras fibrovasculares que conforman el nicho de las células madre limbares. Existen numerosas patologías que pueden ocasionar una pérdida de transparencia corneal y una posible ceguera. El tratamiento estándar es la queratoplastia, pero está contraindicada en caso de LE dañados o insuficiencia de células madre limbares (ICML). Esto se debe a la pérdida del nicho limbar y a la imposibilidad de autorenovación del epitelio, por lo que una queratoplastia fallará a medio y largo plazo. En caso de ICML unilateral y que el ojo sano no se vea comprometido, la primera alternativa es el auto-trasplante. Si no se cumplen estos requisitos se opta por trasplantes de LE alogénicos de donantes vivos o cadavéricos, con el consiguiente riesgo de rechazo y escasez de donantes adecuados. Estos condicionantes hacen necesario la generación de nuevas estrategias alternativas. La compleja estructura 3D del LE hace difícil generar de novo un nuevo tejido artificial funcional, por lo que los xenotrasplantes de tejidos descelularizados se presentan como una alternativa prometedora dentro de la ingeniería tisular. El objetivo de este trabajo es evaluar 4 protocolos de descelularización aplicados sobre LE porcinos completos y hemilimbos superiores (HL), la capacidad de adhesión celular sobre los sustitutos generados y su composición en términos de moléculas de la matriz extracelular (MEC) y del epitelio limbar. Los protocolos de descelularización están basados en el empleo, solos o combinados, de agua destilada, cloruro sódico (para inducir el choque osmótico), detergentes (para remover las membranas celulares) y enzimas (para eliminar los remanentes de ADN y ARN). Se evaluó la eficiencia de descelularización mediante la tinción con DAPI y cuantificación de ADN, la morfología y estructura mediante la tinción con hematoxilina eosina y los componentes de la MEC mediante las técnicas azul alcian y rojo picosirio para identificar proteoglicanos y fibras colágenas respectivamente. Los resultados demostraron que todos los protocolos de descelularización consiguieron remover eficientemente el contenido celular. En términos de preservación de MEC, todos los protocolos produjeron una disminución de sus componentes y una alteración en la orientación y alineamiento de las fibras, siendo el protocolo basado en el empleo de agua destilada y del detergente SDS aplicado a los HL el que mejor preservó estos componentes. Tras determinar que el candidato con mayor potencial eran los HL tratados con SDS se procedió a la recelularización con células corneales de conejo (SIRC) y células madre mesenquimales derivados de tejido adiposo humano (hADSC). Dichos tejidos recelularizados se evaluaron a los 7, 14 y 21 días de cultivo ex vivo mediante histoquímica e inmunohistoquímica. Ambas fuentes celulares generaron sustitutos con un epitelio estratificado capaz de expresar los marcadores limbares p63, pancitoqueratina y cristalina Z, observables desde el día 7, para SIRC, y desde el día 14 con hADSC. En ambos tipos celulares se observó la expresión de componentes de membrana basal laminina y colágeno IV desde el día 14 de maduración. Estos resultados demuestran la posibilidad de generar nuevos sustitutos limbares mediante descelularización y recelularización de LE porcinos con células epiteliales y mesenquimales, manteniendo la expresión de marcadores concretos del epitelio limbar y suponiendo una alternativa con potencialidad clínica para el tratamiento de la ICML.

Este proyecto contó con el apoyo de el Instituto de Salud Carlos III (ICI21-00010 y FIS PI20/0317), Consejería de Salud y Familias, Junta de Andalucía (PI-0086-2020) y la UGR- fondos FEDER (B-CTS-504-UGR).

DESARROLLO DE VECTORES LENTIVIRALES REGULADOS QUE MIMETIZAN EL COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DEL TCR PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA INMUNOTERAPIA ANTITUMORAL CON CÉLULAS CAR-T

M Tristán-Manzano (2), N Maldonado-Pérez (1), P L Justicia-Lirio (2), P Muñoz (1), M Cortijo-Gutiérrez (1), K Pavlovic (1,3), R Jiménez-Moreno (3), S Nogueras (3), M D Carmona (3), S Sánchez-Hernández (1), A Aguilar-González (1), M Castella (4), M Juan (4), J A Marchal (5), C Marañón (1), K Benabdellah (1), C Herrera (3), F Martín (1).

1. Pfizer-University of Granada-Junta de Andalucía Centre for Genomics and Oncological Research (GENYO) 2. LentiStem Biotech 3. Maimonides Institute of Biomedical Research in Córdoba (IMIBIC), Cellular Therapy Unit, Reina Sofía University Hospital, University of Córdoba, Córdoba, Spain 4. Department of Hematology, ICMHO, Hospital Clínic de Barcelona, Spain. 5. Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research (CIBM), University of Granada, Spain

RESUMEN: Las células T que expresan receptores de antígeno quimérico (CAR-T, Chimeric Antigen Receptor T cells) han revolucionado el panorama actual de inmunoterapia frente al cáncer, con un éxito impresionante frente a tumores hematológicos de linaje B refractarios/recidivantes CD19+, con cuatro productos CAR-T aprobados como medicamento de terapias avanzadas desde 2017. Estos receptores sintéticos dirigen y determinan la actividad de la célula T hacia las células diana que expresan el antígeno frente al que están diseñadas. Sin embargo, estas terapias CAR-T aún presentan importantes limitaciones debido a efectos secundarios muy graves (como la tormenta de citoquinas o los eventos neurológicos adversos), así como una falta de eficacia en el 40-50% de los pacientes de leucemia y linfomas tratados y presentando una respuesta aún más pobre frente a tumores sólidos. A día de hoy, la gran mayoría de las células CAR-T se generan utilizando vectores retrovirales con promotores de expresión fuerte y constitutiva que generan una alta densidad de CAR en la superficie de la célula y con ello, provocan en muchos casos, una excesiva señalización tónica en ausencia del antígeno, agotamiento prematuro y una estimulación crónica que reducen la eficacia y comprometen la seguridad de la terapia. Así, nos planteamos la optimización y desarrollo de vectores lentivirales (VLs) orientados a incrementar la seguridad y eficacia de las células CAR-T mediante el control de la expresión génica. Sadelain et al. demostraron mediante CRISPR/Cas9 que el CAR expresado bajo el promotor endógeno del locus del receptor de la célula T (TCR), incrementa el potencial antitumoral, ya que el CAR deja de estar continuamente expresado en la membrana, evitando el agotamiento y reduciendo la señalización tónica. En esta línea, buscamos VLs que imiten ese patrón de expresión del TCR, como una alternativa más cercana a la clínica para la generación de células CAR-T mejoradas. Nuestros datos mostraron que los VLs que expresan el transgén a través de un promotor quimérico (AW) del gen WAS (Wiskott-Aldrich) imitan fielmente la cinética del TCR/CD3 tras la estimulación antigénica. Es decir, se observa una bajada en la densidad del CAR en membrana tras la activación, restaurándose a niveles basales a los pocos días. Esta cinética contrasta con la de las células CAR-T comerciales, donde el CAR se expresa bajo los promotores fuertes EF1 α o MSCV, generándose un incremento de la expresión tras la activación. Posteriormente, desarrollamos AW-VL a partir del CAR clínico α CD19-4-1BB (ARI-0001), desarrollado por el Hospital Clínic y recientemente aprobado para exención hospitalaria en España. En esta comparativa, las células AW-CAR-T (AWARI) exhibieron una mayor proporción de células T troncales memoria, menor agotamiento tras la eliminación eficaz in vitro e in vivo de células CD19+, menor señalización tónica y niveles más moderados de TNF α e IFN γ tras la lisis tumoral. Sin embargo, la eficacia citotóxica in vitro e in vivo de células de linfoma de Burkitt y leucemia fue similar con ARI y AWARI, probablemente debido a limitaciones de los modelos. Por el contrario, sí que observamos una mayor actividad lítica específica de las células AWARI comparado con las ARI en un modelo artificial in vitro de tumor de páncreas CD19+. Estos resultados demuestran que el vector lentiviral AW puede constituir una alternativa interesante para la generación de productos CAR-T con mejores características. Finalmente, dado que la expresión del CAR ARI-001 controlada por el vector AW mejora sus propiedades, nos centramos en demostrar la factibilidad de producir células AWARI a gran escala en condiciones similares a GMP. Considerando todo lo anterior, hemos propuesto las células AWARI para la realización de un ensayo clínico con la finalidad de determinar si realmente se logra mejorar los resultados de las células ARI-0001, tanto en términos de eficacia como de reducción de los efectos secundarios.

TRASLACIÓN CLÍNICA DE NUEVOS MEDICAMENTOS DE TERAPIAS AVANZADAS GENERADOS MEDIANTE INGENIERÍA TISULAR

Miguel Alaminos (1,2)

1. Departamento de Histología de la Universidad de Granada 2. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA

RESUMEN: El desarrollo de nuevos métodos de biofabricación basados en células, biomateriales y factores de crecimiento ha posibilitado la generación en laboratorio de nuevos medicamentos de terapias avanzadas (ATMP) para el tratamiento de diversas patologías de difícil abordaje. A este respecto, el Grupo de Ingeniería Tisular de la Universidad de Granada desarrolló nuevos biomateriales nanoestructurados basados en hidrogeles de fibrina y agarosa que mostraron ser altamente biocompatibles tanto ex vivo como in vivo. Utilizando estos biomateriales combinados con células cultivadas a partir de pequeñas biopsias de tejido humano, el grupo de investigación ha logrado diseñar modelos innovadores de piel, córnea, paladar, mucosa oral, nervio, uréter, vejiga urinaria, pared abdominal y otros tejidos y órganos humanos mediante ingeniería tisular. En colaboración con la Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas (RADYTTA), el Grupo ha logrado trasladar a la clínica dos de estos productos de terapias avanzadas (la córnea y la piel), y está en proceso de traslación clínica de otros de estos productos. Para ello, los investigadores demostraron, en primer lugar, que los productos generados mediante ingeniería tisular eran biocompatibles y mostraron adecuados niveles de bioseguridad y utilidad a nivel preclínico cuando se implantaron en animales de laboratorio. En segundo lugar, se consiguió fabricar estos productos en calidad de medicamento y se obtuvo autorización por parte de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) para su traslación clínica mediante la implementación de un ensayo clínico, en el caso de la córnea, y mediante uso compasivo, en el caso de la piel. Los resultados preliminares obtenidos tras la utilización clínica de ambos productos son muy prometedores y demuestran la utilidad de la córnea artificial en pacientes con úlceras corneales graves refractarias al tratamiento, y de la piel artificial en pacientes con graves quemaduras ingresados en una unidad de quemados. Aunque aún es necesario desarrollar productos de terapias avanzadas más biomiméticos y funcionalmente más útiles, estos resultados ponen de relieve la posibilidad de generar tejidos artificiales humanos para el tratamiento de enfermedades para las cuales no existe una terapia realmente eficaz en estos momentos.

Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+i), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III (Cofinanciado por FEDER), proyectos FIS PI20/0317, FIS PI21/0980, FIS PI18/0331, FIS PI18/0332, ICI21/00010 (NANOULCOR) y ICI19/00024 (BIOCLEFT). Financiado por los proyectos PE-0395-2019, PI-0086-2020 y PI-0442-2019 de la Consejería de Salud y Familias, Junta de Andalucía y B-CTS-450-UGR20 y B-CTS-504-UGR20 (proyectos de I+D+i en el marco del Programa Operativo FEDER Andalucía 2014-2020, Universidad de Granada y Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades, Junta de Andalucía).

NUEVOS AVANCES Y RETOS EN LA INMUNOTERAPIA CONTRA EL CÁNCER

Karim Benabdel Lah El Khlanji

Grupo de Terapia génica y celular. Departamento de medicina genómica, GENYO, Granada, 14016, España.

RESUMEN: Las tecnologías basadas en edición del genoma no solo brindan oportunidades sin precedentes para estudiar la funcionalidad básica del sistema celular, sino que también mejoran los resultados de varias aplicaciones clínicas. En nuestro laboratorio, estamos desarrollando herramientas de edición genómica para mejorar el sistema inmune desde una perspectiva clínica y de investigación básica. Durante esta breve charla discutiremos los avances recientes en el desarrollo de las nucleasas programables, y su utilización para la mejora de las células inmunes. Además, describimos cómo las diferentes herramientas de edición de genes han permitido el uso de células de donantes sanos en la terapia CAR T en lugar de las células autólogas sin riesgo de enfermedad de injerto contra huésped o rechazo. Finalmente hablaremos de futuras aproximaciones basadas en la nanotecnología y su implementación en el campo de la inmunoterapia.

HACIA UNA NUEVA GENERACIÓN DE CÉLULAS CAR-T RECICLANDO SUS SEÑALES INTRACELULARES INMUNOLÓGICAS

Marina Cortijo-Gutiérrez (1), Noelia Maldonado-Pérez (1), María Tristán-Manzano (1), Kristina Pavlovic-Pavlovic (1-2), Pedro Justicia-Lirio (1-4), Carlos Blanco (1-4), Inmaculada Herrera (2-3), Francisco Martín (1), Karim Benabdellah (1)

1. Grupo de Terapia génica y celular. Departamento de medicina genómica, GENYO, Granada, 14016, España. 2. GC14 Terapia celular, IMIBIC. Universidad de Córdoba, Hospital universitario Reina Sofía, Córdoba, 14004, España. 3. Unidad de Hematología, Hospital Reina Sofía, Córdoba, 14004, España. 4. Lentistem Granada, 14016, España.

RESUMEN: Las células T genéticamente modificadas para expresar los Receptores Antigénicos Quiméricos (CAR-T cells), del inglés Chimeric Antigen Receptors, han emergido como una exitosa terapia para las enfermedades relacionadas con las células B o linfocitos B. Los CARs son proteínas de fusión formadas por la combinación de una región extracelular encargada de la unión específica al tumor, un espaciador, y un dominio transmembrana unido finalmente a los dominios citoplasmáticos responsables de la señalización. A pesar de que la terapia CAR-T es prometedora, aún hay que luchar contra varios impedimentos existentes como son la toxicidad, la inactivación por el microambiente tumoral y una baja persistencia de las células CAR en los pacientes. En el presente estudio, exploramos la aplicación de Edición Génica (EG) basada en el uso de CRISPR/Cas9 para abolir la expresión del gen PD-1, envuelto en los mecanismos intrínsecos de la activación y agotamiento de las células T a través del eje PD-1 / PD-L1, uno de los principales mecanismos de inmunoescape tumoral. Nuestro principal objetivo es expresar el CAR anti-CD19 mediante un vector lentiviral y modificar el locus de PD-1 para, en su lugar, expresar IL-15. De esta manera, la célula CAR modificada será resistente a la inactivación mediada por PD-L1 y podría expresar IL-15 bajo el promotor endógeno de PD-1 induciendo así una activación de las células T CAR y se podría ver comprometida la aparición de agotamiento. Esta nueva configuración de CAR debería aumentar la actividad y fisiología de la célula debido a la retroalimentación entre IL15-IL15R. Como prueba inicial, nosotros diseñamos donadores de ADN para insertar IL15-2A-eGFP en el locus de PD-1. Inicialmente fue usado como plantilla donadora producto de PCR junto con una nucleofección con ribonucleoproteína (RNP) de CRISPR/Cas9. Nuestros primeros resultados mostraron la aparición de células T GFP+PD1- después de la activación de las mismas con un porcentaje de expresión de eGFP de un 26,9%. En contraposición, encontramos un alto porcentaje de muerte celular como consecuencia de la técnica de edición usada (observamos una disminución del 50% al 30,9% en el caso de las células Wildtype y hasta de un 12% en el caso de las células editadas). Probablemente esto fue debido al uso de productos de PCR como donadores de ADN. Ahora estamos tratando de entregar estos AND donadores mediante el uso de Vectores Adenoasociados (AAV) como alternativa para reducir así la citotoxicidad del experimento.

PONENCIAS

1. Identificación de nuevas variantes genéticas asociadas al desarrollo de fenotipos extremos de infertilidad masculina mediante la estrategia GWAS
2. Los perfiles de metilación y expresión génica de monocitos revelan nuevas vías implicadas en la patogénesis de la arteritis de células gigantes
3. Genomics of Systemic Sclerosis: functional and clinical implications
4. Papel de la variación genética común de las regiones no codificantes del gen KATNAL1 en la susceptibilidad a fenotipos severos de infertilidad masculina
5. Bioimpresión de un modelo de melanoma maligno trilaminar para el tratamiento personalizado del cáncer
6. Validación y caracterización funcional de variantes identificadas por GWAS para leucemia linfocítica crónica: estudio en el contexto del consorcio CRuCIAL
7. Meta-análisis de datos genómicos de múltiples enfermedades revela nuevos loci de riesgo compartido entre vasculitis sistémicas

IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS AL DESARROLLO DE FENOTIPOS EXTREMOS DE INFERTILIDAD MASCULINA MEDIANTE LA ESTRATEGIA GWAS

Miriam Cerván-Martín, Tüttelmann F, Alexandra M. Lopes, Lara Bossini-Castillo, Rocío Rivera-Egea, Nicolás Garrido, Saturnino Lujan, Gema Romeu, Samuel Santos-Ribeiro, José A. Castilla, M. Carmen González, Ana Clavero, F. Javier Vicente, Miguel Burgos, Rafael Jiménez, Sara González-Muñoz, Andrea Guzmán-Jiménez, Alberto Pacheco, Cristina González, Susana Gómez, David Amorós, Jesus Aguilar, Fernando Quintana, Carlos Calhaz-Jorge, Ana Aguiar, Joaquim Nunes, Sandra Sousa, Isabel Pereira, Maria Graça Pinto, Sónia Correia, Jovany Sánchez-Curbelo, Olga López-Rodrigo, M. Fernanda Peraza, Javier Martín, Iris Pereira-Caetano, Patricia I. Marques, Filipa Carvalho, Alberto Barros, Jörg Gromoll, Lluís Bassas, Susana Seixas, João Gonçalves, Sara Larriba, Sabine Kliesch, Rogelio J. Palomino-Morales, F. David Carmona.

RESUMEN: La infertilidad masculina es un problema creciente en las sociedades desarrolladas actuales. La azoospermia no obstructiva (NOA) y la oligospermia severa (SO) son dos manifestaciones extremas de infertilidad masculina debida a alteraciones en el número de espermatozoides en el eyaculado. NOA y SO están caracterizadas por un fallo espermatogénico grave (SPGF). En la actualidad, sólo se puede establecer una causa genética para alrededor del 20% de los hombres con SPGF, teniendo el resto de los casos una etiología desconocida. La estrategia de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) se ha aplicado con éxito en multitud de enfermedades complejas. Sin embargo, ha sido menos fructífera en los estudios que han intentado descifrar el componente genético del SPGF idiopático debido, principalmente, a la falta de potencia estadística y a otras limitaciones en el diseño de los estudios realizados hasta la fecha. Nuestro grupo ha realizado el primer GWAS con una amplia cohorte de origen europeo, incluyendo un total de 1.274 individuos infértiles debido a SPGF y 1.951 controles fértiles de la Península Ibérica y Alemania. Hemos utilizado distintas herramientas bioestadísticas y bioinformáticas para evaluar el posible efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en la susceptibilidad a desarrollar SPGF, incluyendo el análisis de subtipos histológicos específicos. La cohorte de casos abarcó 502 pacientes con SO y 772 con NOA, subdividiendo a estos últimos según el resultado de las técnicas que se les aplicaron para la extracción de espermatozoides testiculares (TESE) y de sus características histopatológicas. El genotipado se realizó con la plataforma GSA v3 (Illumina). Tras el control de calidad y la imputación de genotipos, se analizaron un total de 6.539.982 SNPs mediante modelos de regresión logística. Finalmente, los datos se sometieron a un meta-análisis por el método de varianza inversa. Nuestros resultados mostraron dos asociaciones significativas con el fenotipo de Síndrome de Sólo Células de Sertoli (SCO). Una de ellas está localizada en la región del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II (rs1136759, OR=1,80, P=1,32E-08) y la otra en una región reguladora del cromosoma 14 cercana al gen VRK1 (rs115054029, OR=3,14, P=4,37-08). VRK1 codifica un factor proliferativo relevante para la espermatogénesis que provoca la pérdida progresiva de espermatogonias cuando se interrumpe en modelos ratón. Además, llevamos a cabo un análisis pormenorizado del posible papel del sistema MHC en la susceptibilidad a SCO mediante un método de imputación validado que infiere los alelos clásicos del MHC y las posiciones de aminoácidos polimórficos. Con este método, observamos que la presencia de serina en la posición 13 de la proteína HLA-DRβ1 (definida por el alelo de riesgo de la variante principal: rs1136759) explicaba la mayoría de las señales de asociación con SCO dentro de la región del MHC de clase II. Este residuo está situado en el bolsillo de unión de la molécula HLA-DR e interactúa directamente con el antígeno presentado. Curiosamente, la posición 13 del HLA-DRβ1 es la posición de aminoácidos de riesgo más relevante para un amplio espectro de trastornos inmunomediados. En cuanto a los haplotipos tradicionales del MHC, el haplotipo HLA-DRB1*13 (principal marcador genético asociado a NOA idiopática en asiáticos) fue la señal más intensa. Nuestros datos sugieren que la variación común tiene un papel relevante en el desarrollo de la infertilidad masculina debida a SPGF, en concreto de SCO, el fenotipo más extremo de NOA. SCO se caracteriza por la pérdida de células germinales e implica una probabilidad considerablemente mayor de que el TESE no tenga éxito. Por tanto, nuestros hallazgos podrían ayudar a mejorar el diagnóstico y pronóstico de los pacientes con SPGF de origen desconocido, cuya única alternativa para tener hijos biológicos es someterse al TESE sin tener una garantía de éxito en este proceso.

LOS PERFILES DE METILACIÓN Y EXPRESIÓN GÉNICA DE MONOCITOS REVELAN NUEVAS VÍAS IMPLICADAS EN LA PATOGÉNESIS DE LA ARTERITIS DE CÉLULAS GIGANTES

Elkyn Estupiñán-Moreno (1), Lourdes Ortiz-Fernández (1), Tianlu Li (2), Laura Ciudad (2), Eduardo Andrés-León (1), Laura Carmen Terron-Camero (1), Sergio Prieto-González (3), Georgina Espígol-Frigolé (3), José Hernández-Rodríguez (3), María C. Cid (3), Ana Márquez (1,4), Esteban Ballestar (2), Javier Martín (1).

1. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra (IPBLN), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Granada, España. 2. Grupo de Epigenética y Enfermedades Inmunes. Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras (IJC), Badalona, Barcelona, España. 3. Departamento de Enfermedades Autoinmunes, Hospital Clínic, IDIBAPS, Universidad de Barcelona, Barcelona, España. 4. Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, Hospital Clínico San Cecilio, Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada ibs.GRANADA, Granada, España.

RESUMEN: La arteritis de células gigantes (ACG) es una vasculitis sistémica de grandes vasos mediada por el sistema inmunitario con una etiología compleja en la cual intervienen, tanto en su inicio como en su progresión, un número indeterminado de factores genéticos y epigenéticos. Diversas células inmunitarias han sido relacionadas con su fisiopatología, entre ellas los monocitos CD14+, células cruciales en los procesos inflamatorios sistémicos y locales. Teniendo en cuenta que la integración de los datos ómicos ha demostrado ser eficaz para una mejor comprensión de las bases moleculares de las enfermedades complejas, el objetivo de nuestro estudio fue realizar un análisis integrativo de los perfiles de metilación del ADN y expresión génica de los monocitos CD14+ en la ACG. Para ello, primero seleccionamos positivamente por citometría de flujo los monocitos CD14+ a partir de sangre total de 31 controles sanos y 82 pacientes con ACG clasificados en tres estados clínicos diferentes (pacientes con enfermedad activa, en remisión con tratamiento de glucocorticoides (GC) y en remisión sin tratamiento). Posteriormente, se realizó un perfil de metilación del ADN con la matriz Illumina Infinium Methylation EPIC y se llevó a cabo la secuenciación del ARN para un estudio de asociación del epigenoma y del transcriptoma, respectivamente. Se utilizó el paquete MatrixEQTL de R para determinar la correlación entre los cambios de metilación del ADN y las alteraciones de la expresión génica. Los resultados revelaron una profunda desregulación tanto en el perfil de metilación como en el de expresión génica de los monocitos CD14+ de los pacientes con ACG. En particular, los monocitos de los pacientes con la enfermedad activa mostraron un fenotipo más pro-inflamatorio en comparación con los controles y los pacientes en remisión. Por ejemplo, la respuesta a la interleucina-6 (IL-6) y a la IL-1, así como a la IL-11, que surgió como una nueva vía de citoquinas implicada en la ACG, estaba desregulada en los monocitos de los pacientes activos. Además, los monocitos de pacientes en remisión con tratamiento presentaron un fenotipo anti-inflamatorio en comparación con los controles y los pacientes en remisión sin tratamiento, con una sobreexpresión de los genes diana del receptor de glucocorticoides y una menor expresión de los genes implicados en las vías cruciales del proceso inflamatorio. Por último, el análisis de integración permitió identificar nuevos genes con un papel potencial en la patogénesis de la ACG, como ITGA7 y CD63, así como genes que median la respuesta molecular a la GC en la ACG, como FKBP5, ETS2, ZBTB16 y ADAMTS2. Este es el primer análisis que estudia los perfiles de metilación y expresión génica de los monocitos de pacientes con ACG. Los resultados obtenidos proporcionan evidencias de genes y vías que contribuyen al papel patogénico de este tipo celular en esta vasculitis, así como a la respuesta molecular al tratamiento con GC.

GENOMICS OF SYSTEMIC SCLEROSIS: FUNCTIONAL AND CLINICAL IMPLICATIONS

Javier Martín

Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra" (CSIC)

RESUMEN: La esclerosis sistémica (SSc) o esclerodermia es una enfermedad autoinmune crónica del tejido conectivo que se caracteriza por presentar alteraciones del sistema inmunológico, problemas vasculares y fibrosis de la piel y órganos internos. Afecta principalmente a mujeres, ratio mujer / hombre de 8 a 2, en la edad media de la vida, no tiene tratamiento específico y está considerada entre las más graves de las enfermedades reumatológicas. Al igual que otras enfermedades mediadas por el sistema inmunológico (IMIDs) no se conoce de forma completa su etiología pero sí que en ella intervienen tanto factores medio-ambientales como genéticos. Nuestro grupo de investigación lleva más de 15 años estudiando las bases genéticas de la SSc y mediante estudios amplios del genoma completo -GWAS- hemos sido capaces de identificar 27 zonas genómicas asociadas de forma firme al desarrollo de la enfermedad y a las formas clínicas más severas de esta. Nuestros datos han destacado el papel de genes de la respuesta inflamatoria y del sistema inmunológico innato y adquirido en la enfermedad, junto a molécula implicadas en fibrosis y autofagia. Diferentes estudios funcionales (eQTLs, RNAseq, metilación, capture Hi-C) nos han ayudado a profundizar en los mecanismos moleculares y tipos celulares alterados en la SSc, permitiendo, junto al análisis de factores genéticos comunes entre la SSc y otras IMIDs, la identificación de posibles nuevas dianas terapéuticas. Además, nuestros avances genómicos han facilitado el desarrollo de un índice poligénico de riesgo -PRS- para la SSc con posible utilidad clínica en el futuro.

PAPEL DE LA VARIACIÓN GENÉTICA COMÚN DE LAS REGIONES NO CODIFICANTES DEL GEN KATNAL1 EN LA SUSCEPTIBILIDAD A FENOTIPOS SEVEROS DE INFERTILIDAD MASCULINA

Andrea Guzmán-Jiménez, Miriam Cerván-Martín, Lara Bossini-Castillo, Rocío Rivera-Egea, Nicolás Garrido, Saturnino Lujan, Gema Romeu, Samuel Santos-Ribeiro, IVIRMA Group, Lisbon Clinical Group, José A. Castilla, M. Carmen Gonzalvo, Ana Clavero, Vicente Maldonado, F. Javier Vicente, Miguel Burgos, Rafael Jiménez, Sara González-Muñoz, Warintorn Ruksiriwanich, Josvany Sánchez-Curbelo, Olga López-Rodrigo, Iris Pereira-Caetano, Patricia I. Marques, Filipa Carvalho, Alberto Barros, Lluís Bassas, Susana Seixas, João Gonçalves, Sara Larriba, Alexandra M. Lopes, Rogelio J. Palomino-Morales, F. David Carmona.

RESUMEN: La espermatogénesis es un proceso que requiere una regulación estricta de la expresión génica para generar gametos masculinos móviles y viables. Las manifestaciones más graves de fallo espermatogénico severo (SpF) se caracterizan por una disminución radical (oligospermia severa, SO) o total (azoospermia no obstructiva, NOA) del número de espermatozoides en el eyaculado. La infertilidad de la mayoría de pacientes con SpF presenta una etiología desconocida y se sospecha que ésta puede ser de tipo multifactorial (en la que intervengan tanto factores genéticos como ambientales). Se ha propuesto, por tanto, que SpF podría representar un rasgo complejo. Este trabajo pretende arrojar luz sobre la posible relación existente entre la variación genética de KATNAL1 (que es un gen esencial para la correcta regulación de microtúbulos del citoesqueleto involucrada en la interacción entre células de Sertoli y células germinales) y el desarrollo de los distintos fenotipos de SpF, así como sobre el posible papel pronóstico de dicha variación en la extracción de espermatozoides testiculares (TESE) a partir de biopsias de pacientes sometidos a técnicas de reproducción asistida. Estudios previos en ratones mutantes para KATNAL1 mostraron que la desregulación de este gen puede ser clave en el desarrollo de infertilidad masculina, mediante exfoliación prematura de espermátidas a la luz de los túbulos seminíferos. En base a lo anterior, diseñamos un estudio de asociación genética caso-control en el que se analizaron tres polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs; rs2077011, rs7338931 y rs2149971) situados en los extremos 3' y 5' de KATNAL1, en una población compuesta por 715 hombres infértiles (505 NOA y 210 SO) y 1058 controles sanos de España y Portugal. El genotipado de las muestras se realizó con la tecnología TaqMan y la posible asociación de los SNPs analizados con los fenotipos de estudio se llevó a cabo con distintos modelos de regresión logística. Nuestros resultados indicaron que el haplotipo que incluye los alelos rs2077011*C, rs7338931*T y rs2149971*A confiere un riesgo significativo para desarrollar SpF ($P=3.45E-02$, $OR=2.33$), NOA ($P=8.22E-03$, $OR=2.97$), arresto en la maduración de la línea germinal (MA) ($P=2.44E-02$, $OR=5.00$) y síndrome de Sertoli sólo (SCO) ($P=4.03E-03$, $OR=5.16$). Además, este haplotipo parece ser un buen marcador genético de la probabilidad de TESE infructuoso ($P=2.22E-04$, $OR=6.13$). Posteriores análisis in silico de anotaciones funcionales del genoma evidenciaron que el efecto de riesgo observado puede ser consecuencia de una alteración del patrón de splicing de KATNAL1 en testículo, la cual podría producir una sobrerrepresentación de una isoforma corta no funcional. En resumen, nuestros resultados sugieren que la variación genética común de regiones no codificantes de KATNAL1 confiere riesgo a desarrollar infertilidad masculina debido a SpF. Creemos que este tipo de estudios puede suponer una ayuda fundamental para diseñar marcadores de pronóstico eficaces del éxito del TESE, que permitan un mejor asesoramiento a los pacientes con SpF idiopático.

BIOIMPRESIÓN DE UN MODELO DE MELANOMA MALIGNO TRILAMINAR PARA EL TRATAMIENTO PERSONALIZADO DEL CÁNCER

Gema Jiménez, Julia López de Andrés, Marta Ruiz-Toranzo, Cristina Antich, Carlos Chocarro-Wrona, Elena López-Ruíz, Carmen Griñán-Lisón y Juan Antonio Marchal

RESUMEN: Los modelos in vitro convencionales para el estudio del cáncer no reproducen con precisión el microambiente tumoral, por lo que la bioimpresión 3D representa una excelente herramienta para superar sus limitaciones. En el presente trabajo, se bioimprimen dos modelos multicelulares de melanoma maligno (MM) de tres capas, compuestos por células madre cancerosas aisladas de una línea celular establecida de MM o de una línea celular derivada de un paciente primario, junto con otros tipos celulares que componen el microambiente tumoral como son los fibroblastos, células madre mesenquimales y células endoteliales. Los diferentes tipos celulares, tanto aisladas de pacientes como obtenidas de líneas establecidas, se embebieron en una biotinta y se bioimprimieron réplicas de los modelos de MM utilizando la bioimpresora de extrusión REGEMAT 3D V1. Una vez obtenido el modelo, se procedió al análisis de la proliferación celular, viabilidad y actividad metabólica mediante imágenes confocales 3D y el ensayo de AlamarBlue. La remodelación del microambiente tumoral se evaluó mediante pruebas reológicas e imágenes ESEM. Además, se evaluó la respuesta de ambos modelos tumorales al vemurafenib midiendo la proliferación y viabilidad celular a diferentes dosis de fármaco y períodos de administración, y se examinaron los genes relacionados con la quimiorresistencia mediante qPCR. La capacidad tumorigénica se analizó mediante la implantación subcutánea de los hidrogeles de MM en ratones NGS. Tras el análisis, los diferentes tipos celulares que componen el modelo mostraron una alta proliferación y actividad metabólica, y remodelaron activamente la matriz extracelular. Los modelos de MM reunieron una serie de propiedades reológicas similares a las de la piel y llegan a desarrollar una vascularización temprana. Además, estos modelos presentaron respuestas diferentes al vemurafenib en comparación con los cultivos celulares y entre ellos, según si las células son obtenidas de pacientes o de líneas establecidas. Finalmente, inducen un proceso tumorigénico en xenotransplantes murinos logrando modelos in vivo más miméticos que los convencionales. Por primera vez, se ha desarrollado un modelo de MM trilaminar humano basado en células madre cancerosas bioimpresas que recrea el microambiente tumoral in vitro e in vivo, así como una respuesta al tratamiento más realista, siendo útil como modelo de cribado farmacológico para establecer una medicina personalizada y de precisión contra el MM.

VALIDACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE VARIANTES IDENTIFICADAS POR GWAS PARA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA: ESTUDIO EN EL CONTEXTO DEL CONSORCIO CRUCIAL

Ana Moñiz-Díez, Paloma García-Martín, José Manuel Sánchez-Maldonado, Antonio José Cabrera-Seirano, Marisa Cañadas-Garre, Rob ter Horst, Yolanda Benavente, Stefano Landi, Angelica Macaudo, Francisca Hernández-Mohedo, Pedro González-Sierra, Blanca Espinet, Esther Clavero, Rossana Maffei, Anna María Puiggros, Roberto Marasca, Miguel Ángel López-Nevot, Elisa López-Fernández, Tzu Chen-Liang, Irene Gámez, Adoración Hernández-Vidaña, Juan José Rodríguez-Sevilla, Víctor Moreno, Rafael Marcos-Gragera, María García-Álvarez, Javier Llorca, Andrés Jerez, Aleksandra Butrym, Delphine Casabonne, Mario Luppi, Miguel Alcoceba, Kari Hemminki, Yang Li, Lourdes Vázquez, Silvia de Sanjosé, Asta Försti, Daniele Campa, Federico Canzian, Mihai G. Netea, Manuel Jurado, Juan Sainz

RESUMEN: La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la leucemia más común entre los adultos en los países occidentales. Se trata de una enfermedad incurable, que disminuye drásticamente la esperanza de vida en comparación con la población general. El curso clínico de la LLC es extremadamente heterogéneo, pudiendo variar en función del estadio clínico y la presencia de lesiones genéticas estables y/o mutaciones puntuales recurrentes. Actualmente, los estudios de genes candidatos y de asociación del genoma completo (GWAS) han identificado variantes genéticas asociadas con la susceptibilidad a LLC; sin embargo, estas variantes genéticas requieren validación en otras poblaciones para su futura implementación en la clínica, además de un estudio en profundidad de su funcionalidad biológica. En este trabajo nos propusimos validar y caracterizar funcionalmente 41 polimorfismos de nucleótido único (SNPs) para LLC, identificados por GWAS, en una cohorte de 1139 pacientes diagnosticados con LLC y 1950 controles sanos del consorcio CRUCIAL. La asociación se evaluó mediante regresión logística ajustada por edad, sexo y país de origen, y confirmó la asociación de 21 SNPs con riesgo de LLC ($P < 0.05$). El efecto más fuerte se detectó en el SNP rs35923643 del locus GRAMD1B (OR=1.93; IC95%: 1.66-2.25; $P=6.50E-16$). Además, se confirmó la asociación de SNPs en los genes AC107990.1||INFE2L3P1, ACOXL, BCL2, CXXC1, DMRTA1, EOMES|LINC01980, FAS, GPR37, IRF4, IRF8, MDS2, ODF3B, OPRM1|IPCEF1, PCAT29|LOC107984788, POT1, PRKD2, TERT and TMPRSS5|MAP2K2 loci (OR=1.16-1.45). El metaanálisis de los datos de CRUCIAL con los obtenidos de GWAS previos confirmó la asociación de 28 SNPs a nivel GWAS ($P < 0.05$). Mecánicamente, los portadores del alelo GRAMD1Brs35923643G presentaron niveles aumentados de células B transicionales CD24+CD38+, así como mayores niveles séricos de IL18R1 ($P=0.00085$), expresada en células B. Además, los niveles de proteínas SIRT2, STAMBP y ADA en suero fueron menores en portadores del alelo GRAMD1Brs2953196G ($P=0.00037$, 0.0003 y 0.00078 , respectivamente). Por otra parte, los portadores del alelo IRF8rs391855A presentaron mayores niveles de células B de memoria con cambios de isotipo ("class-switched") (CD27+IgM-IgD-) ($P=3.39 \cdot 10^{-5}$) y células T de memoria central CD4+CD45RA-CD27+ ($P=0.00010$). Los portadores de los alelos CXXC1rs1036935A y PRKD2rs11083846A mostraron menores niveles de células B CD19+CD20+ y de células B transicionales CD24+CD38+ ($P=0.00046$ y 0.00075 , respectivamente). Paralelamente, los portadores del alelo ILRUNrs3800461C tenían menores niveles de células T reguladoras HLA-DR+ y células T convencionales CD4+ ($P=0.00058$ y 0.00041 , respectivamente), mientras que los portadores del alelo POU5F1P2|ODF1rs2511714G presentaban niveles aumentados de células efectoras de memoria CD8+CD45-CD27- ($P=0.00053$). Finalmente, detectamos una interesante relación entre el alelo TERTrs7705526A y descenso en suero de TRAIL y TWEAK ($P=5.23 \cdot 10^{-5}$ y 0.0001 , respectivamente), que son potentes activadores de la vía de muerte celular en células de LLC. El modelo incluyendo los 16 polimorfismos con una asociación significativa con riesgo de LLC ($P < 0.10$) mejoró significativamente la predicción de LLC en la población CRUCIAL, en comparación con un modelo que sólo consideraba variables demográficas (AUC=0.813 IC95%:0.787-0.838 vs AUC=0.769 IC95%:0.741-0.799; PLRtest=6.83·10⁻¹⁴). En conclusión, este estudio confirmó la asociación de 28 loci identificados por GWAS con el riesgo a LLC y sugirió que algunos de los genes más relevantes, entre los que se encuentran GRAMD1B, IRF8, CXX1, PRKD2, ILRUN y TERT, podrían ejercer su función modulando la diferenciación de células B y T, así como a través de la respuesta inmune mediada por células B y T y las vías de apoptosis.

META-ANÁLISIS DE DATOS GENÓMICOS DE MÚLTIPLES ENFERMEDADES REVELA NUEVOS LOCI DE RIESGO COMPARTIDO ENTRE VASCULITIS SISTÉMICAS

Ortiz-Fernández L (1), Carmona E.G (1-2), López-Mejías R (3), Lyons P.A (4), GCA Group, AAV Group, Takayasu Group, IgAV Group, IKDGC, Direskeneli H (5), Merkel P.A (6), Morgan A.W (7-8), Burgner D (9-12), Sawalha A.H (13-16), Smith K.G.C (4), González-Gay M.A (3), Martín J (1), Márquez A (1-2).

1.Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra", CSIC, PTS Granada, Granada, Spain. 2.Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, ibs. GRANADA, Granada, Spain. 3.Epidemiology, Genetics and Atherosclerosis Research Group on Systemic Inflammatory Diseases, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, IDIVAL, Santander, Spain. 4.Cambridge Institute of Therapeutic Immunology and Infectious Disease, Department of Medicine, University of Cambridge, Cambridge Biomedical Campus, Cambridge, UK. 5.Department of Internal Medicine, Division of Rheumatology, Marmara University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey. 6.Division of Rheumatology, Department of Medicine, Division of Clinical Epidemiology, Department of Biostatistics, Epidemiology, and Informatics, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA. 7.Leeds Institute of Cardiovascular and Metabolic Medicine, University of Leeds, Leeds, UK. 8.NIHR Leeds Biomedical Research Centre, Leeds Teaching Hospitals NHS Trust, Leeds, UK. 9.Murdoch Children's Research Institute, The Royal Children's Hospital, Parkville, Victoria, Australia. 10.Department of Paediatrics, The University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia. 11.Department of General Medicine, The Royal Children's Hospital, Parkville, Victoria, Australia. 12.Department of Paediatrics, Monash University, Clayton, Victoria, Australia. 13.Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Department of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA. 14.Lupus Center of Excellence, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA. 15.Department of Immunology, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA. 16.Division of Rheumatology, Department of Pediatrics, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

RESUMEN: Las vasculitis sistémicas son un conjunto heterogéneo de enfermedades complejas que se caracterizan por la inflamación de los vasos sanguíneos. Sus etiologías son poco conocidas, pero si está bien establecido que los factores genéticos desempeñan un papel importante. En este estudio, nos propusimos investigar el componente genético compartido entre las vasculitis sistémicas a través de la combinación de datos genómicos de enfermedades clínicamente diferentes como un único fenotipo. Para ello, realizamos un meta-análisis de datos genómicos de los principales fenotipos de vasculitis sistémicas (arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, enfermedad de Kawasaki, vasculitis IgA, vasculitis asociadas a ANCA incluyendo poliangeítis granulomatosa eosinofílica ANCA-negativa), incluyendo más de 5.000 casos y 30.000 controles. Usamos el paquete de R ASSET que nos permite identificar el subgrupo de fenotipos que mejor contribuyen a la asociación. Además, usamos bases de datos públicas para investigar el posible papel funcional de las variantes asociadas. Nuestro análisis identificó 8 señales independientes significativas a nivel de genoma completo (p value $\leq 5e-08$) compartidas al menos por dos de las enfermedades analizadas y que se asociaran por primera vez con al menos uno de los fenotipos. Entre ellas, nosotros detectamos loci conocidamente importantes en enfermedades autoinmunes como CTLA4, PTK2B y IL12B. Interesantemente, mientras que la mayoría de las señales presentaban un efecto de la asociación que iba en la misma dirección para todos los fenotipos asociados, dos loci mostraron efectos opuestos. Por ejemplo, el alelo menor de rs6898844-IRF1-AS1, el cuál había sido descrito como un factor de riesgo para la poliangeítis granulomatosa eosinofílica, presentaba un efecto de protección en la enfermedad de Kawasaki y en la arteritis de Takayasu en nuestro estudio. Finalmente, la anotación funcional in silico sugirió que algunas de las variantes asociadas podrían desempeñar un papel regulador. A modo de ejemplo, se ha descrito que la variante rs128738-P4HA2 modifica los niveles de expresión de varios genes, incluyendo P4HA2, SLCN22A5 o ACSL6. Nuestros resultados identificaron nuevos loci con efectos pleiotrópicos en las vasculitis sistémicas, arrojando luz sobre nuestro conocimiento actual del componente genético que subyace a estas enfermedades.

PONENCIAS

1. Impacto de la COVID-19 en la salud y bienestar de la población general y de mayor vulnerabilidad y en sus determinantes: estudio longitudinal de Real-World Data con Encuesta panel Sanitaria y Social (ESSOC-COVID)
2. Poblaciones fenotípicas de linfocitos T $\gamma\delta$ en la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2
3. Marcadores ómicos en pacientes con COVID-19 como predictores de la evolución de la enfermedad
4. Estudio de las subpoblaciones de linfocitos T en pacientes hospitalizados por COVID-19
5. Respuesta celular y humoral a las vacunas frente al SARS-COV-2 en pacientes con inmunodeficiencia variable común
6. Síndrome Post-COVID-19: determinando el panorama inmunológico tras la infección aguda
7. Efectos de la pandemia por SARS-CoV-2 en la búsqueda de ayuda por síntomas de cáncer
8. DatAC: Applications to Explore the Environmental and Air Quality Factors Associated with COVID-19 at Global Level

IMPACTO DE LA COVID-19 EN LA SALUD Y BIENESTAR DE LA POBLACIÓN GENERAL Y DE MAYOR VULNERABILIDAD Y EN SUS DETERMINANTES: ESTUDIO LONGITUDINAL DE REAL-WORLD DATA CON ENCUESTA PANEL SANITARIA Y SOCIAL (ESSOC-COVID)

A Cabrera-Léon, C Sánchez-Cantalejo, MM Rueda, M Saez, I Enrique, R Ferri, L Castro, J Hidalgo, MA Barceló, R Villegas, N Lorusso, A Daponte

RESUMEN: Para preparar y dar una respuesta efectiva de Salud Pública en el contexto de la pandemia en curso de SARS-CoV-2 surge este proyecto de investigación. Su objetivo general es conocer la magnitud, características y evolución del impacto de la COVID-19 sobre el bienestar, la salud y sus determinantes socioeconómicos, psicosociales, conductuales, laborales, ambientales y clínicos en la población general y, especialmente, en poblaciones con mayor vulnerabilidad socioeconómica. Esta investigación parte de un enfoque de Salud Pública para poder intervenir individual y colectivamente frente a la pandemia y se basa en un diseño de Real-World Data que integra datos observacionales a partir de un estudio epidemiológico longitudinal (Encuesta Sanitaria y Social, ESSOC) y de registros clínicos, epidemiológicos, sociodemográficos y medioambientales de diferentes administraciones públicas de Andalucía tales como: Base de Datos Longitudinal de Población de Andalucía, Base Poblacional de Salud de Andalucía, Red de Información Ambiental de Andalucía, Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía o Sistema de Georreferenciación de zonas desfavorecidas de la Estrategia Regional Andaluza para la Cohesión e Inclusión Social. Además, los datos son preprocesados, integrados y analizados mediante técnicas avanzadas de estadística, muestreo y aprendizaje automático. En cuanto a la ESSOC, esta encuesta tiene un diseño probabilístico de panel de superposición que garantiza estimaciones válidas y precisas tanto transversales como longitudinales a partir de muestras probabilísticas de base poblacional. Así pues, la ESSOC se compone de una serie de medidas desglosadas en una nueva muestra y otra longitudinal para cada medición. Las encuestas son telefónicas asistidas por ordenador y son realizadas en Andalucía sobre población general mayor de 16 años, población residente en zonas desfavorecidas y población mayor de 55 años (ver imagen 1). Se tiene previsto realizar un total de más de 22.000 entrevistas telefónicas efectivas a lo largo de tres años desde el comienzo del estado de alarma y, hasta noviembre de 2021, se han realizado casi 14.000. Su información es integrada con la de los registros administrativos anteriores, disponiendo por tanto de información auxiliar individual y contextual. Este proyecto cuenta con la aprobación del Comité Ético de Investigación de la Consejería de Salud y Familias y su protocolo ha sido recientemente publicado en una revista internacional de alto impacto. Además, el equipo está conformado por personas investigadoras con distinta titulación y especialidades de grupos consolidados y emergentes de centros públicos académicos, administrativos y de atención sanitaria pública de Andalucía. En el congreso de investigación PTS se presentarán los principales elementos conceptuales y metodológicos del proyecto y, por primera vez, la plataforma Web que le da soporte para difundir sus resultados descriptivos a través tablas y gráficos interactivos y personalizables desarrollados con los Softwares R y Python. Además, el proyecto presentado garantizará una ingente difusión científica que se verá reforzada por su compromiso con la Ciencia Abierta. Así pues, contribuirá a la generación de conocimiento en la línea estratégica de Innovación en COVID-19 de la Consejería de Salud y Familias, produciendo información relevante sobre cohortes poblacionales que ayudará a la toma de decisiones en el SSPA en materia de diseño de intervenciones personalizadas que mejoren la atención sanitaria, la salud y la calidad de vida de las poblaciones más afectadas por la COVID-19.

POBLACIONES FENOTÍPICAS DE LINFOCITOS T $\gamma\delta$ EN LA FASE AGUDA DE LA INFECCIÓN POR SARS-COV-2

Lopez-Perez, David; Redruello-Romero, Anaïs; Diez-Echave, Patricia; Hidalgo-García, Laura; Ruiz-Malagon, Antonio Jesús; Molina-Tijeras, José Alberto; Rodríguez-Sojo, María Jesús; Martín-Castaño, Benita; Martínez-Zaldívar, Margarita; Mota, Emilio ; Cobo, Fernando; Alvarez-Estevez, Marta; García, Federico; Morales-García, Concepción; Merlos, Silvia; García-Flores, Paula; Colmenero Ruiz, Manuel; Pérez del Palacio, José; López-Cobo, Ana; Vicente, Francisca; Hernandez-Quero, José; Rodríguez-Cabezas, María Elena; Carazo, Ángel; Martín, Javier; Rodríguez-Nogales, Alba; Morón, Rocío; Gálvez, Julio

RESUMEN: Los linfocitos T $\gamma\delta$ son una fracción minoritaria (en torno al 10%) del conjunto de células T de sangre periférica. Se caracterizan por expresar un receptor de antígeno (TCR, T Cell Receptor) que se genera mediante recombinación somática de los loci TCR γ y TCR δ (de forma similar al receptor de antígeno de la población mayoritaria T $\alpha\beta$). Funcionalmente, las células T $\gamma\delta$ se pueden clasificar dependiendo del segmento V empleado en la recombinación del TCR. Algunas de estas poblaciones muestran un repertorio TCR muy restringido (en especial, las que incluyen el segmento V9 de la cadena γ y el V2 de la cadena δ) lo que los asemeja más a la inmunidad innata que a la adaptativa. Aunque aún queda mucho por aprender, se sabe que ciertos fenotipos T $\gamma\delta$ tienen un papel relevante en las etapas iniciales de la respuesta inmunitaria antiviral. El estudio analiza una cohorte de 85 pacientes en fase aguda de la infección por SARS-CoV-2. Los pacientes fueron clasificados en 3 grupos en función de la gravedad de los síntomas: asintomáticos o leves (sin criterio de ingreso hospitalario) moderados (con criterio de ingreso hospitalario, pero no en UCI) y graves (ingresados en UCI). Mediante citometría de flujo, se identificaron y cuantificaron tres poblaciones de linfocitos T $\gamma\delta$ de sangre: γ V9+/ δ V2+, γ V9+/ δ V2- y γ V9-/ δ V2- (el grupo γ V9-/ δ V2+ resultó virtualmente indetectable). Adicionalmente, se analizó en cada población la expresión de GPR56 (marcador asociado a fenotipo citotóxico). Los resultados mostraron descensos progresivos de la población γ V9+/ δ V2+ en relación a la gravedad de los síntomas, que fueron muy relevantes en el grupo de pacientes ingresados en UCI. De forma similar, la proporción de células positivas para GPR56 descendió de forma progresiva en función de la gravedad de los síntomas. Nuestros datos aportan nuevas perspectivas sobre el papel de los linfocitos T $\gamma\delta$ en el desarrollo de la enfermedad COVID-19.

MARCADORES ÓMICOS EN PACIENTES CON COVID-19 COMO PREDICTORES DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Diez-Echave, Patricia (1,2); Hidalgo-García, Laura (1,2); Ruiz-Malagon, Antonio Jesús (1,2); Molina-Tijeras, José Alberto (1,2); Rodríguez-Sojo, María Jesús (1,2); López-Pérez, David (1,2); Redruello Romero, Anaís (2,3); Martín-Castaño, Benita (2,4); Martínez-Zaldívar, Margarita (2,5); Mota, Emilio (2,5); Cobo, Fernando (2,6); Alvarez-Estevez, Marta (2,7); García, Federico (2,7); Morales-García, Concepción (8); Merlos, Silvia (8); García-Flores, Paula (8); Colmenero Ruiz, Manuel (9); Pérez del Palacio, José (10); López-Cobo, Ana (10); Vicente, Francisca (10); Hernandez-Quero, José (2,11); Nuñez, María (2,13), Rodríguez-Cabezas, María Elena (1,2); Carazo, Ángel (2,3); Martín, Javier (12); Rodríguez-Nogales, Alba (1,2); Morón, Rocío (2,13); Gálvez, Julio (1,2).

1. Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). 3. Unidad de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada. 4. Centro de Salud de Las Gabias, Granada. 5. Centro de Salud Salvador Caballero, Granada. 6. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada. 7. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada. 8. Servicio de Neumología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada. 9. Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada. 10. Fundación Medina, Granada. 11. Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada. 12. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPBLN-CSIC), Granada. 13. Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada.

RESUMEN: La crisis de salud pública mundial causada por la COVID-19 ha supuesto un auténtico reto para el sistema sanitario. En España, su letalidad media es de un 0.18%, aunque dada su distribución heterogénea y las diferentes estrategias sanitarias adoptadas ha provocado una gran variación entre comunidades, siendo de un 0.13% en Andalucía. La infección por SARS-CoV-2 cursa con un amplio espectro de cuadros clínicos, desde síntomas muy leves como tos seca, fiebre o fatiga, hasta neumonías bilaterales graves. Por otra parte, la detección de ARN viral en heces, además de en el tracto respiratorio, de pacientes infectados apunta a que la microbiota puede desempeñar un importante papel en esta enfermedad, relacionada con su capacidad para modular la respuesta inmunitaria, como se ha descrito en numerosas enfermedades. Sin embargo, son pocos los estudios que han abordado este tema. El objetivo de este estudio fue identificar biomarcadores ómicos (metabólicos y microbiómicos) que determinen la respuesta clínica de pacientes infectados con SARS-CoV-2. Se reclutaron un total de 156 pacientes, dividiéndolos según el curso de la enfermedad en tres grupos: pacientes con sintomatología grave (45 pacientes), sintomatología moderada (56 pacientes) y sintomatología leve/asintomática (55 pacientes). Se recogieron muestras de heces, exudados nasales y de sangre para los posteriores análisis de microbiota bacteriana y metabólicos, además de analizar el historial clínico de cada paciente. Las características clínicas más relevantes de los pacientes reclutados en el estudio son: 1) Sintomatología grave: 74% de los pacientes son hombres, donde el 64% de los pacientes tiene más de 60 años, presentando una mortalidad del 36%; de forma general, estos pacientes presentan comorbilidades, como obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial o asma. 2) Sintomatología moderada, con similar proporción entre ambos sexos y abarcando el rango de la edad entre 20 y 80 años, con ausencia de mortalidad; estos pacientes también presentan como comorbilidades las patologías antes mencionadas, aunque en menor medida en comparación con el grupo grave; 3) Sintomatología leve o asintomática, un 73% eran mujeres, todos con menos de 60 años, con patologías muy variadas, y no relacionadas con las mencionadas anteriormente. El análisis metabólico en plasma permitió identificar un total de 317 variables, de las que destacan los productos derivados de la glucosa, de aminoácidos, de fosfolípidos y de ácidos grasos. El análisis de componentes principales (PCA) permitió distinguir claramente los pacientes graves de los pacientes con sintomatología leve o asintomáticos, con los pacientes de sintomatología moderada distribuidos entre los dos primeros, indicando una progresividad en la intensidad de las variables asociadas a la sintomatología de la enfermedad. Por último, el análisis de la microbiota aislada de heces y de exudado nasal de los pacientes también ha permitido establecer diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes. El análisis de componentes de los filamentos microbianos mostró tres clusters, relacionados con cada uno de los grupos de pacientes, tanto en muestras procedentes de exudados nasales como en fecales. En cuanto a la diversidad alfa, se pudo observar una relación negativa entre sintomatología y diversidad bacteriana, siendo menor en pacientes con sintomatología grave. En conclusión, se ha podido observar un perfil omico diferencial entre los distintos cuadros clínicos de pacientes COVID. En este sentido, aunque es necesario profundizar en los mecanismos implicados, estos resultados podrían permitir identificar biomarcadores de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la enfermedad.

ESTUDIO DE LAS SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS T EN PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19

Juan Francisco Gutiérrez Bautista, Antonio Rodríguez Nicolás, Antonio Rosales Castillo, Pilar Jiménez, Federico Garrido, Per Anderson, Miguel Ángel López Ruz, Francisco Ruiz-Cabello

RESUMEN: La infección por SARS-CoV-2 se relaciona con un desorden inmunológico en el que se observa linfopenia. Las causas de esta linfopenia aún no están esclarecidas. Nuestro trabajo se basa en determinar que subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+, Th1, Th2, Th17, Th1/Th17, Th22, Treg, TFH y Th0) se ven afectadas por la linfopenia. Para ello, realizamos citometría de flujo multiparamétrica diferenciando el subconjunto de células T helper (Th) según el patrón de expresión de receptores de quimiocinas. Estudiamos 144 pacientes COVID-19 clasificados en hospitalizados (n=100), UCI (n=17) y asintomáticos (n=27). La comparación en porcentaje y valor absoluto de linfocitos en sangre periférica de pacientes COVID-19 es significativamente menor que el de los grupos control y asintomáticos. Esta disminución afecta tanto al conjunto de linfocitos como a los subgrupos CD3+, CD4+ y CD8+, no habiendo diferencias en el cociente CD4/CD8. El análisis del subconjunto Th muestra un marcado descenso de linfocitos Th1 (CD3+, CD4+, CD45+, CXCR3+, CXCR5-, CCR6-, CCR4-) en los pacientes COVID-19. Además, se observa una disminución de la población Th1/Th17 que no es tan relevante como la observada para Th1. Este descenso de linfocitos Th1 fue paralela al incremento en la proporción de linfocitos T naïve (CD45RA+, CXCR3-, CCR4-, CCR6-, CCR10-) en los pacientes COVID-19. Existe una disminución en la subpoblación de células Th1 en pacientes COVID-19 que tiene un efecto negativo en la defensa antiviral y en el control y resolución de la infección. En general se obtiene una disminución también en otras poblaciones Th y una mayor presencia de células con fenotipo no diferenciado Th0. Es probable que esta mayor presencia de células Th0 sea una respuesta a la linfopenia. Alternativamente, puede explicarse a un bloqueo en la diferenciación como consecuencia de una baja estimulación por parte de células dendríticas, o una alta concentración de citoquinas como TNF- α , IL-6 y IL-10, que son reguladores negativos en la activación y supervivencia de linfocitos T.

RESPUESTA CELULAR Y HUMORAL A LAS VACUNAS FRENTE AL SARS-COV-2 EN PACIENTES CON INMUNODEFICIENCIA VARIABLE COMÚN

Mohamed Mohamed K., Jiménez García C., Rodríguez de la Peña A., Mediero Valeros B., Culebras E., García Bravo L., Guerra Galán T, Izquierdo Delgado C. , Guevara Hoyer K., Fuentes-Antrás J. , Pérez Segura P. , Sánchez-Ramón S

RESUMEN: El objetivo del estudio fue evaluar la respuesta celular y humoral en pacientes con inmunodeficiencia variable común (IDVC) que fueron vacunados frente al SARS-CoV-2. Se estudiaron 20 pacientes con diagnóstico de IDVC, de acuerdo con los criterios de la ESID, para ver la producción de interferón-gamma (IFN- γ) específica frente al SARS-CoV-2 antes de la vacunación y entre tres y seis meses después de la segunda dosis de la vacuna frente al SARS-CoV-2. Como grupo control, se evaluaron 20 donantes sanos vacunados o recuperados de la COVID-19. También, se determinó la concentración de anticuerpos IgG frente a la proteína de la espícula del virus. La respuesta celular antes de la administración de la vacuna se midió en 10 pacientes con IDVC, observándose resultados positivos de niveles de IFN- γ específicos frente al SARS-CoV-2 en 4 de 5 pacientes que habían pasado la infección previamente a la infección. Se obtuvieron resultados positivos de inmunidad celular en 18 de los 20 (90%) pacientes con IDVC ($1,296 \pm 703$ mUI/ml) y en 19 de los 20 (95%) controles sanos ($1,600 \pm 665$ mUI/ml). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con IDVC y los controles sanos con respecto a la respuesta celular específica frente al SARS-CoV-2 ($p=0.157$). Dos pacientes con IDVC y un donante sano mostraron niveles indeterminados de producción de IFN- γ frente al SARS-CoV-2 (100-200 mUI/ml). Mientras que todos los donantes sanos produjeron una respuesta inmunitaria humoral específica, solo un 67% de los pacientes con IDVC mostraron respuesta positiva de anticuerpos anti-IgG frente al SARS-CoV-2. Nuestros resultados preliminares muestran que un 90% de los pacientes con IDVC produjeron una respuesta celular específica adecuada tras vacunación frente al SARS-CoV-2, destacando la relevancia de la vacunación en este grupo de riesgo. En los pacientes con IDVC con infección previa, la vacuna refuerza la respuesta celular. Sin embargo, la respuesta de anticuerpos específica frente al SARS-CoV-2 solo se observó en un 67% de los pacientes. Estos resultados podrían respaldar la relevancia de los estudios inmunológicos para tomar decisiones terapéuticas personalizadas

SÍNDROME POST-COVID-19: DETERMINANDO EL PANORAMA INMUNOLÓGICO TRAS LA INFECCIÓN AGUDA

Francisco Pérez(1), Sara Cuesta (2),*, Paloma Cal-Sabater (2), Paulina Rybakowska (1), Alicia Landeira (3), Elisa Arribas (2), Aida Fiz-López (2), Antonio García-Blesa (2), Juan Hernández (2), Sara Gutiérrez (4), Pablo Tellería (4), Cristina Novoa (4), Silvia Rojo Rello (5), Angel De Prado (2), Cándido Pérez (2), Rosa Sedano (4), Marta Domínguez-Gil (6), María Jesús Peñarrubia (7), Daan K.J. Pieren (8), José A. Garrote (2), Eduardo Arranz (2), José María Eiros (6), Eduardo Tamayo (9), Antonio Orduña (5), Manuel Fuentes (3), Cécile A.C.M. van Els (8), Carlos Dueñas (4), Concepción Marañón(1)\$, David Bernardo (2,10)\$*

1. Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO), Granada, España 2. Alergia e Inmunidad de Mucosas, Unidad de Excelencia del Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Universidad de Valladolid y CSIC, Valladolid, España 3. Centro de Investigación del Cáncer (Universidad de Salamanca-CSIC), Campus Universitario Miguel de Unamuno, Salamanca, España 4. Departamento de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España 5. Unidad de Microbiología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España 6. Departamento de Microbiología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España 7. Departamento de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España 8. Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, Holanda 9. Unidad Investigación, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España 10. Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid, España

RESUMEN: La infección por SARS-CoV-2 causa una enfermedad respiratoria que cursa de leve a grave en los seres humanos, con una tasa de mortalidad estimada del 2% (COVID-19). Los síntomas clínicos tras la resolución de la infección se conocen como COVID persistente. Estos síntomas incluyen fatiga, disnea, dolor articular, dolor torácico, palpitaciones, anosmia y disgeusia, pérdida de cabello, síntomas cognitivos y malestar psicosocial. Sin embargo, los criterios de diagnóstico se basan principalmente en el relato de los pacientes, y aún no se ha descrito la asociación de los síntomas de la COVID persistente con cambios en el sistema inmunitario. En este trabajo se estudian los cambios inmunológicos en una cohorte de pacientes convalecientes de COVID-19, con el objetivo de caracterizar su posible relación con el síndrome persistente. Para ello, se reclutaron muestras de sangre periférica de pacientes convalecientes de COVID-19, 3 meses después de recibir el alta hospitalaria (n = 93). Posteriormente, se realizó el inmunofenotipado de dichas muestras utilizando un panel de 40 marcadores para citometría de masas (CyTOF). Los resultados se compararon con 25 donantes sanos pre-pandémicos y 25 individuos post-gripe. En cuanto a los resultados, se observó una disminución del compartimento T en los pacientes post-COVID, 3 meses después del alta hospitalaria. Se detectaron diferencias en las subpoblaciones de células T CD4+ y CD8+ entre los individuos post-COVID y los controles, especialmente en el compartimento de memoria central. También se observó un aumento de células T CD4+ y CD8+ activadas en los pacientes post-COVID. Estas diferencias se correlacionaron con los pacientes más graves en el momento de la infección aguda. Por otro lado, se observó una recuperación del compartimento mielóide, aunque con alteraciones funcionales. El compartimento de células B mostró un fenotipo migratorio, y se observó una expansión de los plasmablastos a los 3 meses tras la recuperación de la enfermedad. Las diferencias más prominentes fueron observadas en el grupo de pacientes de más de 70 años. De esta forma, se concluye que nuestros resultados muestran la persistencia de las anomalías en células inmunitarias en pacientes post-COVID, tres meses después del alta hospitalaria. Sin embargo, estos cambios observados en el sistema inmunitario son independientes de los síntomas relacionados con la COVID persistente.

EFFECTOS DE LA PANDEMIA POR SARS-COV-2 EN LA BÚSQUDA DE AYUDA POR SÍNTOMAS DE CÁNCER

RESUMEN: Debido a la carga excepcional que ha sufrido el sistema sanitario desde el comienzo de la pandemia por SARS-CoV-2, se han observado demoras significativas en el diagnóstico de cáncer. Además de los cambios en el funcionamiento del sistema sanitario, las demoras en el diagnóstico podrían ocurrir también porque las personas hayan tardado más tiempo en consultar por sus síntomas durante las fases más agudas de la pandemia. Para probar esta hipótesis, comparamos los tiempos de espera para buscar ayuda para síntomas de cáncer y las barreras percibidas en la población española, antes y después de la primera ola de la pandemia. Se analizaron datos del Oncobarómetro de la Asociación Española contra el Cáncer. El Oncobarómetro es una encuesta periódica representativa poblacional que cubre todo el territorio español y que en 2020 se realizó en dos olas: "Pre-coronavirus" con 3.269 encuestas realizadas en marzo de 2020 y "Post-coronavirus" con 1.500 encuestas realizadas en septiembre de 2020. Se utilizó el cuestionario internacional ABC para medir los tiempos de espera tras notar síntomas de cáncer y las barreras percibidas a la hora de buscar atención médica. Se realizaron comparaciones de las olas Pre vs. Post mediante regresiones múltiples logísticas y de Poisson. Se observó un aumento significativo en los tiempos de espera en la ola Post para 12 de los 13 síntomas de cáncer incluidos en el cuestionario, con aumento importante para "cualquier cambio en el pecho" (OR = 1,54, IC del 95%: 1,22-1,96) y "sangrado sin explicación aparente" (OR = 1,50, 1,26-1,79). También aumentó el número de barreras percibidas en la ola Post, con más personas reportando preocupación por lo que el médico podría encontrar (OR = 1,58, 1,35-1,84) y preocupación por hacer perder el tiempo al médico (OR = 1,48, 1,25-1,74). Tanto los tiempos de búsqueda de ayuda como las barreras percibidas aumentaron más para las mujeres y las personas mayores (+65). El tiempo que las personas esperarían para consultar con el médico por síntomas de cáncer y el número de barreras percibidas aumentaron tras la primera ola de la pandemia, especialmente entre las mujeres y las personas mayores. Estos resultados sugieren una necesidad intervenciones o campañas informativas que animen a las personas a consultar a sus médicos si experimentan síntomas que podrían indicar cáncer y que aborden las barreras percibidas.

Financiación: Asociación Española contra el Cáncer (www.aecc.es)

DATAAC: APPLICATIONS TO EXPLORE THE ENVIRONMENTAL AND AIR QUALITY FACTORS ASSOCIATED WITH COVID-19 AT GLOBAL LEVEL

Juan Antonio Villatoro-García, Jordi Martorell-Marugán, Raúl López-Domínguez, Pedro Carmona-Sáez

RESUMEN: Since the emergence of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) in December 2019, great efforts have been made to understand the relationship between the transmission and mortality of the virus and environmental factors. Numerous studies have been published in this field. However, in several cases, contradictory results have been obtained. These discrepancies are often caused by the different periods and conditions analyzed in each study. Therefore, to obtain reliable and coherent results among studies, applications and data repositories that integrate COVID-19 data with environmental variables over time are necessary. Currently, there are several applications that integrate data regarding the transmission of COVID-19. For example, platforms such as that of John Hopkins University or Our World in Data have had a great impact on both the scientific community and the media. However, for a correct spatial-temporal study of the influence of environmental factors on the transmission and mortality of the virus, an application that integrates all the information from these platforms as well as variables related to environmental factors is necessary. Here, we present DataAC (Data Against COVID-19), a data fusion project with interactive web frontends that integrates COVID-19, climatological and air pollution data in Spain and worldwide. DataAC is a visual analysis platform that contains COVID-19 metrics data (daily cases, vaccinations, hospitalizations, etc.), climatological data (temperature, rainfall, air speed and insolation), pollution data (NO₂, PM₁₀, PM_{2.5}, SO₂ and CO) and demographics data (mobility and population). All these data have been extracted from different sources such as the Ministry of Health of Spain or the Copernicus Climate Change Service, and they are available for different geographical levels (countries and regions). In addition, DataAC provides different statistical methods that allow users to explore and perform their own analyses. DataAC has a free license and it is available at <https://covid19.genyo.es> (Spain data) and <https://dataac.genyo.es> (worldwide data). These two platforms offer researchers many resources that can be very useful when studying the relationship of COVID-19 with different factors.

PONENCIAS

1. Propiedades beneficiosas de las aliáceas y su empleo como complemento alimenticio
2. Inducción de la obesidad a través de la dieta: alteración del metabolismo oxidativo hepático
3. Subproductos de chirimoya como fuente de compuestos bioactivos con aplicaciones cosmeceúticas
4. Preparación y alimentación dirigida de peces cebra con componentes aislados del olivo
5. Genética del reloj circadiano y su efecto sobre el cronotipo, los patrones del sueño y de la dieta, y el riesgo de desarrollar obesidad. Estudio EPIC-España de cronodieta
6. Protocolo INFOGEST, del conocimiento a la acción. Un método consensuado para la digestión gastrointestinal in vitro
7. Efecto de Campos Eléctricos Pulsados (CEP) en la extracción de compuestos fenólicos en subproductos de naranja
8. Subproductos del aguacate: una estrategia neuroprotectora
9. Desarrollo de nuevos productos funcionales a partir de subproductos de la industria azucarera-alcoholera mediante la aplicación de procesos biotecnológicos "AZUBIOACT"
10. Potencial bioactivo de la hoja de olivo en patologías crónicas

PROPIEDADES BENEFICIOSAS DE LAS ALIÁCEAS Y SU EMPLEO COMO COMPLEMENTO ALIMENTICIO

Juristo Fonollá, Enrique Guillamón, Alberto Baños

RESUMEN: El género *Allium* spp. incluye plantas como el ajo (*Allium sativum* L.) y la cebolla (*Allium cepa* L.) ricas en compuestos organosulfurados (OSC) como la alicina, el propil-propano tiosulfonato (PTS) y el propil-propano tiosulfonato (PTSO), entre otros. Históricamente, los OSC de aliáceas se han empleado en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades y recientemente han mostrado tener propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorales e inmunoestimulantes. AlioCare® es un complemento alimenticio basado en una fórmula que incluye fuentes concentradas de ajo y cebolla que contribuyen al normal funcionamiento del sistema inmunológico. Diversos estudios, tanto in vitro como in vivo, han evidenciado su significativa actividad antifúngica y antibacteriana de amplio espectro frente a bacterias multirresistentes aisladas de muestras humanas. Además, sus principios activos han mostrado protección frente al virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS). Así mismo, otros estudios realizados en modelos murinos de inflamación intestinal han demostrado su significativa actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora. Recientemente, en un modelo de obesidad inducida por la dieta, se ha demostrado que la ingesta de estos compuestos contribuye a mejorar las condiciones clínicas asociadas al síndrome metabólico, con una reducción significativa de los valores de colesterol LDL y de la presión arterial de los animales tratados. Además, se ha constatado una reducción del peso corporal y de la grasa abdominal y cambios en la composición del microbioma intestinal compatibles con un efecto prebiótico. Por último, en humanos sanos, se ha demostrado que la ingesta diaria de este suplemento modifica positivamente el metabolismo, incrementándose compuestos como las lisolecitinas (lysoPCs), cuyo aumento está directamente relacionado con la prevención de diversas patologías, especialmente el cáncer. Dada la evidencia preclínica que presenta este tipo de compuestos de aliáceas, son varios los ensayos clínicos en marcha que pretenden confirmar estos resultados y demostrar todas las propiedades del producto.

INDUCCIÓN DE LA OBESIDAD A TRAVÉS DE LA DIETA: ALTERACIÓN DEL METABOLISMO OXIDATIVO HEPÁTICO

Alejandro García Beltrán, Aída Lozano Melero, Rosario Martínez Martínez, Ana Guzmán Carrasco, Garyfallia Kapravelou, Milagros Galisteo Moya, Pilar Aranda Ramírez, Jesús M. Porres, María López-Jurado

RESUMEN: El sobrepeso y la obesidad se definen como una excesiva y anormal acumulación de grasa, que supone un factor de riesgo para la salud y en el desarrollo de otras patologías crónicas como la resistencia a la insulina (RI) y la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA). Hoy día, la obesidad es considerada una pandemia, ya que su incidencia aumenta de forma global y alarmante cada año debido principalmente a factores ambientales, tales como la ingesta de dietas altas en grasa y azúcares refinados. La EHGNA se caracteriza por una acumulación de grasa, especialmente triglicéridos, en los hepatocitos, acompañada de altos niveles de estrés oxidativo produciéndose la alteración de la función hepática. En este sentido, el principal objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo de obesidad inducido por la dieta a través de la ingesta de una dieta alta en grasa y fructosa, así como evaluar el efecto del tiempo de consumo de esta dieta sobre la funcionalidad hepática a través de la expresión génica y actividad antioxidante de distintas enzimas. Para ello, un total de 32 ratas macho Sprague-Dawley (de 10 semanas de edad) fueron asignadas a 4 grupos experimentales (n=8). Dos grupos de animales consumieron una dieta estándar (SD) durante 13 o 21 semanas (SD13w o SD21w respectivamente) mientras que los dos grupos experimentales restantes, consumieron una dieta hipercalórica (HF) y fructosa al 20% en el agua de bebida durante 13 (HF13w) o 21 semanas (HF21w). Durante todo el ensayo, los animales tuvieron acceso libre al agua de bebida y a la dieta, y la ingesta de ambas fue controlada diariamente mientras que el peso de los animales se registró semanalmente. Al final del periodo experimental, los animales fueron sacrificados, tras lo cual se procedió a la extracción del hígado. Una porción de este se recogió en una solución para preservar el ARN y el resto fue introducido en nitrógeno líquido y conservado a -80°C hasta su posterior análisis. El ARN total fue extraído y convertido hasta ADNc para analizar la expresión génica de: Nfe2l2, GPX1, Nqo1, SOD1 y Ucp2 mediante RTq-PCR. Además, otra porción de hígado fue homogeneizado para la determinación de la actividad de diferentes enzimas antioxidantes como la enzima catalasa (CAT), la superóxido dismutasa dependiente de Cu/Zn (SOD-Cu/Zn), la superóxido dismutasa dependiente de Mn (SOD-Mn) y la glutatión peroxidasa (GPX), y otras enzimas implicadas en procesos detoxificantes como la NADH:quinona reductasa (QR) y la glutatión-S-transferasa (GST). Los principales resultados mostraron el desarrollo de obesidad en aquellos animales que consumieron la dieta HF y la fructosa en el agua de bebida. El desarrollo de la obesidad durante 13 semanas provocó un aumento en la expresión génica en SOD1 y GPX1. Sin embargo, este aumento de la expresión génica no se tradujo en un aumento de la actividad enzimática de Mn-SOD, GPX y QR, aunque el consumo de la dieta hipercalórica sí que provocó un aumento de la actividad antioxidante de las enzimas SOD-Cu/Zn, GST y CAT en comparación con la actividad enzimática de los animales que consumieron una dieta estándar. En contraposición a lo observado a las 13 semanas, el consumo de la dieta hipercalórica durante 21 semanas produjo una disminución de la expresión génica de SOD1, Nqo1 y Ucp2, así como una disminución de la actividad enzimática en Cu/Zn-SOD, GPX y QR en comparación con los animales que consumieron la dieta estándar. En conclusión, se ha visto que el consumo de una dieta alta en grasa y fructosa durante un largo periodo de tiempo aumenta el estrés oxidativo en el hígado, lo que puede llegar a alterar la funcionalidad hepática, especialmente pudiendo volver ineficiente a los sistemas antioxidantes.

SUBPRODUCTOS DE CHIRIMOYA COMO FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS CON APLICACIONES COSMECÉUTICAS

Abigail García Villegas, Alejandro Rojas García, María del Carmen Villegas Aguilar, Patricia Fernández Moreno, María de la Luz Cádiz Gurrea, David Arráez Román y Antonio Segura Carretero

RESUMEN: Los compuestos fenólicos se caracterizan por su elevado potencial bioactivo y pueden llegar a ser una alternativa interesante para el manejo de algunas enfermedades (1). En este contexto, la chirimoya es una fruta tropical de origen andino caracterizada por ser muy nutritiva, digestiva y una fuente de compuestos bioactivos, incluidos polifenoles como la catequina, las proantocianidinas y el hidroxitirosol, alcaloides, acetogeninas, fitoesteroles y terpenos con elevado poder antioxidante y con efectos sobre la salud de la piel (2). Los compuestos fenólicos cuentan con una potente actividad antioxidante y antiinflamatoria. Son capaces de captar radicales libres, como las especies reactivas del oxígeno y las especies reactivas nitrogenadas que son la causa del estrés oxidativo y de diversos daños celulares a nivel cutáneo (3). Además, estos compuestos bioactivos van a tener la capacidad de inhibir determinadas enzimas, tales como, la tirosinasa, la colagenasa, la elastasa y la hialuronidasa responsables del envejecimiento de la piel. Por lo tanto, estos compuestos van ejercer un efecto beneficioso sobre la piel humana, previniendo el envejecimiento y diversas enfermedades cutáneas (4). España es el principal productor de chirimoya a nivel mundial, cultivándose en la zona sur del país, concretamente, en la Costa Tropical de Granada donde se producen aproximadamente 50000 toneladas de chirimoya al año (5). Como consecuencia de su procesamiento, la industria alimentaria genera elevadas cantidades de subproductos, piel y semillas, las cuales representan aproximadamente entre un 15-25% y un 3-10% respectivamente del peso total del fruto. En los últimos años, la eliminación y el manejo adecuado de todos estos subproductos se ha convertido en una gran inquietud a nivel mundial. Sin embargo, hay que destacar que existen numerosos compuestos bioactivos, como ácidos fenólicos y polifenoles, en las partes no comestibles de la chirimoya que las hacen de interés para la industria cosmeceútica. La mejor opción para revalorizar todos estos subproductos de calidad es la implantación de una economía biocircular mediante la cual se pueden obtener diversos ingredientes bioactivos para el posterior desarrollo de cosmeceúticos. Explotar los subproductos de la chirimoya como fuentes de bioactivos y explorar su potencial antioxidante y antiinflamatorio para su posterior aplicación como ingredientes bioactivos en la industria cosmeceútica, podría suponer una solución a la contaminación asociada a su desperdicio, aprovechando sus propiedades terapéuticas para la piel.

[1] Roleira, F. et al., (2018). Studies in Natural Products Chemistry (Elsevier). [2] García-Salas, P. et al., (2015) Food Res. Int. [3] Vuolo, M. et al. (2019). Bioactive Compounds (Elsevier). [4] Chai, W. et al., (2017) Food Res. Int. [5] Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía, (2015). "El sector de los cultivos subtropicales en Andalucía".

PREPARACIÓN Y ALIMENTACIÓN DIRIGIDA DE PECES CEBRA CON COMPONENTES AISLADOS DEL OLIVO

Juan de Dios Alché, M^a Mar García-Romero, Carlos Acal, Elena Lima-Cabello

RESUMEN: Las moléculas funcionales procedentes de extractos naturales pueden poseer propiedades específicas, capaces de mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. La incorporación de dichas moléculas en alimentos es una de las estrategias más prometedoras para la industria alimentaria. Durante las últimas dos décadas se han realizado estudios que sugieren que la inflamación crónica asociada a una situación de continuo estrés oxidativo, puede ser un factor etiológico en muy diversas patologías como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, neurológicas y pulmonares. El pez cebra es un modelo ampliamente utilizado en diversos ámbitos de la biología experimental, incluyendo el estudio de mecanismos de patologías humanas y los mecanismos de las repuestas inmunitarias. El pez cebra presenta similitudes genéticas con humanos de un 70 a 80%. Al mismo tiempo, las respuestas oxidativas e inflamatorias pueden ser fácilmente inducibles, reproducibles y visualizadas tanto en sus primeras etapas de desarrollo como en el pez adulto. El principal objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad anti-inflamatoria de las semillas de olivo, mediante la optimización de dietas comerciales enriquecidas con este material, en un modelo experimental de inflamación mediante incisión de la aleta caudal y tratamiento con LPS en peces cebras adultos. Los peces adultos se adquirieron de un proveedor comercial (ZFBiolabs S.L., Madrid, SPAIN). Tres grupos de 8 machos y 8 hembras se mantuvieron en acuarios diferentes, en función de las dietas en condiciones ambientales controladas como temperatura 28°C y un ciclo de luz constante de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. Los diferentes grupos de peces se alimentaron durante 8 semanas con las diferentes dietas, dieta control (dieta comercial fórmula Tetra Min Flake, Tetra) y dieta enriquecida con semillas (dieta comercial fórmula Tetra Min Flake y semillas al 20%) dos veces al día (a primera hora de la mañana y a medio día). Entre dichas tomas se administró una toma de nauplios de artemia comercial. Transcurridas las 8 semanas se indujo la inflamación utilizando los peces adultos de cada grupo de dieta. Los animales se anestesiaron con Ethyl 3-aminobenzoate (Tricaína) a una concentración de 0.3 mM y se procedió a seccionar la aleta caudal para producir la lesión en un grupo de adultos de pez cebra. Otro grupo fue tratado con lipopolisacárido (LPS) (Fang, L., & Miller, Y. I. 2012), (Crowhurst, M.O., et al. 2002) durante 8h. Un tercer grupo fue sometido a ambos tratamientos. Tras las inducciones, se procedió a la extracción hepática y al análisis de la expresión del RNA mensajero de marcadores como la interleucina 6 y 1 (IL-6 e IL-1) y la proteína TNF-alpha (TNF- α). Los resultados muestran una bajada drástica de los niveles de biomarcadores relacionados con la inflamación en el grupo de animales alimentados con la dieta enriquecida con semillas de olivo con respecto al grupo de animales sometidos a la dieta control en todos los tipos de inducciones (lesión caudal, LPS o ambas). Estos resultados indican el posible efecto protector y antiinflamatorio de la dieta enriquecida con semillas de olivo. Además demostramos que el análisis in vivo de este modelo de inducción de la inflamación es un método sencillo que permite detectar los efectos de diferentes dietas en un proceso inflamatorio.

GENÉTICA DEL RELOJ CIRCADIANO Y SU EFECTO SOBRE EL CRONOTIPO, LOS PATRONES DEL SUEÑO Y DE LA DIETA, Y EL RIESGO DE DESARROLLAR OBESIDAD. ESTUDIO EPIC-ESPAÑA DE CRONODIETA

Esther Molina-Montes (1,2,3,4), Miguel Rodríguez-Barranco (3,4,5), Ana Ching-López (3,4,5), Reyes Artacho (1), José María Huerta (4,6), Pilar Amiano (4,7,8), Cristina Lasheras (9), Conchi Moreno-Iribas (10,11), Ana Jimenez-Zabala (4,7,8), María-Dolores Chirlaque (4,6), Aurelio Barricarte (4,10,11), Leila Luján-Barroslo (12,13), Antonio Agudo (12), Paula Jakszyn (12), José Ramón Quirós(14), María José Sánchez (3,4,5,15)

1. Departamento de Nutrición y Bromatología, Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INYTA) 'José Mataix', Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada, Granada, España. 3. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs. GRANADA, Hospital Universitario de Granada/Universidad de Granada, Granada, España. 4. CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España. 5. Escuela Andaluza de Salud Pública (EASP), Granada, España. 6. Departamento de Epidemiología, Consejería de Salud de la Región de Murcia, IMIB-Arrixaca, Murcia, España. 7. División de Salud Pública de Gipuzkoa, Gobierno Vasco, San Sebastián, España. 8. Instituto de Investigación Sanitaria Biodonostia, San Sebastián, España. 9. Departamento de Biología Funcional, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Asturias, España. 10. Instituto de Salud Pública de Navarra, Pamplona, España. 11. IdiSNA, Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, Pamplona, España. 12. Unidad de Nutrición y Cáncer, Instituto Catalán de Oncología-IDIBELL, Barcelona, España. 13. Departamento de Enfermería de Salud Pública, Salud Mental y Materno-infantil. Escuela de enfermería, Universidad de Barcelona. 14. Dirección de Salud Pública, Oviedo, España. 15. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de Granada, Granada, España.

RESUMEN: El reloj circadiano está involucrado en el control de los patrones de sueño y alimentación. El cronotipo refleja el ritmo circadiano de un individuo. La relación entre variantes genéticas (polimorfismos de nucleótido único, SNPs) de genes del reloj circadiano con el cronotipo, y con los patrones del sueño y de dieta, así como con el riesgo de desarrollar obesidad, sigue siendo controvertida. El objetivo de este estudio, enmarcado en el proyecto "EPIC-España cronodieta", fue explorar la asociación entre varios SNPs circadianos con estas variables. Se incluyeron 3.183 sujetos con información epidemiológica (cronotipo, patrón del sueño, cronodieta, estilos de vida, y antropometría) y genética de 12 SNPs (PER1, PER2, PER3, MTERF2, NR1D1, CLOCK). Las asociaciones entre cronotipo (de mañana a tarde), cronodieta (número de comidas, horarios de ingesta y composición nutricional de las comidas), obesidad general y abdominal, y otros parámetros antropométricos (por ejemplo, porcentaje de masa grasa) con los SNPs se evaluaron mediante regresión logística y lineal (modelo aditivo), ajustando por sexo, edad y centro. En las asociaciones con riesgo de obesidad se consideraron las mediciones antropométricas en el reclutamiento de la cohorte (1992-1996), y en el seguimiento (2017-2020), es decir, la composición corporal en el estado adulto joven y mayor. Se estimaron 'odds ratios' (ORs), intervalos de confianza al 95%, y p-valores corregidos por comparaciones múltiples. Además, se generaron scores de riesgo genético (GRS), suma de los alelos de riesgo y ponderados, para evaluar la asociación entre los SNPs de manera combinada con todas las variables. A un nivel de significación estadística nominal, la variante rs2735611 (gen PER1) se asoció con una disminución del 11,6% en el aumento de peso (β por alelo = -0,124), mientras que tres variantes del gen CLOCK, rs3749474 y rs4864548, se asociaron con una disminución de ~ 20% en la ganancia de circunferencia de la cintura (por alelo β = -0,204 y -0,187, respectivamente). Otras asociaciones con otros índices antropométricos no se mantuvieron estadísticamente significativos tras la corrección por comparaciones múltiples, a excepción de la asociación con la relación cintura-cadera y rs1801260, rs2070062 y rs4580704 (genes NR1D1 y CLOCK). También se observaron algunas asociaciones nominalmente significativas entre rs2070062 y rs12649507 con una duración del sueño más corta. Las asociaciones tampoco lograron alcanzar significación estadística para las variables de cronodieta / nutrición y el cronotipo. Por el contrario, el GRS ponderado se asoció con el cronotipo vespertino/tardío y con calidad del sueño, variables de cronodieta y obesidad ($p < 0,05$). Además, el score alélico de cronotipo se asoció a su vez con la susceptibilidad al sobrepeso y la obesidad (frente al peso normal) tanto en la edad adulta joven como mayor (OR = 2,2; $p = 0,004$ y OR = 2,1; $p = 0,02$, respectivamente). En conclusión, los resultados de este estudio apoyan que algunas variantes genéticas de genes del reloj circadiano podrían explicar el vínculo entre la susceptibilidad genética a presentar un determinado cronotipo y el riesgo de desarrollar obesidad.

Financiación: Instituto de Salud Carlos III (Exp. no. PI15/00347; Exp. no. PI15/01752; Exp. no. PI15/00579; Exp. no. PI15/02181; Exp. no. PI15/01658) y Marató TV3 Ref. 201604-10.

PROTOCOLO INFOGEST, DEL CONOCIMIENTO A LA ACCIÓN. UN MÉTODO CONSENSUADO PARA LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL IN VITRO

Raquel Olías, Cristina Delgado-Andrade y Alfonso Clemente

Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada, Spain.

RESUMEN: La digestión gastrointestinal es el paso clave que vincula los alimentos que comemos y sus efectos sobre la salud. Es vital comprender este proceso si queremos superar los desafíos que enfrenta actualmente la industria alimentaria. Los científicos en el campo de la Nutrición-Salud perseguimos desde hace décadas un método para simular la digestión gastrointestinal humana, ya que los ensayos de intervención en humanos suelen ser caros, difíciles y éticamente comprometidos. Como resultado, se han usado gran variedad de modelos de digestión in vitro con resultados variables, que limitan la comparación entre estudios. En 2011 se estableció la acción COST INFOGEST (Improving health properties of food for sharing our knowledge on the digestive process; FA1005), para compartir y actualizar el conocimiento del proceso digestivo y comprender mejor las propiedades saludables de los alimentos. Su logro es el establecimiento de un protocolo estandarizado de consenso internacional en el que se emplean ratios constantes comida-fluidos digestivos fisiológicamente relevantes. Este es un método de digestión estática donde los alimentos se someten a las etapas oral, gástrica e intestinal controlando la cantidad de electrolitos, las actividades de enzimas y sales biliares, el factor de dilución, el pH y el tiempo atendiendo a bases fisiológicas. El método INFOGEST puede emplearse para estudios de degradación de alimentos complejos o sus componentes en el tracto gastrointestinal, lo que requiere el análisis de los productos de la digestión de los macronutrientes (péptidos/aminoácidos, ácidos grasos, mono-/disacáridos) y de los micronutrientes liberados de la matriz alimentaria. También es útil como herramienta de screening anterior a la realización de ensayos in vivo o como paso previo a estudios de biodisponibilidad en líneas celulares o de fermentación colónica in vitro. Para validar este protocolo, se llevó a cabo un ensayo interlaboratorio entre los miembros de la red consistente en una digestión gastrointestinal de leche desnatada empleando el método propio de cada laboratorio, simplemente como instantánea de la gran variedad de protocolos que los miembros de la red habían empleado hasta el momento. En una segunda fase, la misma muestra se digirió por todos los participantes con el método estandarizado, interrumpiéndolo en las fases gástrica e intestinal. A continuación, se comparó el grado de hidrólisis proteica y perfil de proteínas obtenido en los distintos laboratorios tras ambas etapas, evidenciándose que las caseínas eran principalmente hidrolizadas durante la fase gástrica, mientras que la β -lactoglobulina era resistente a la acción de la pepsina. La producción de aminoácidos libres tenía lugar esencialmente durante la fase intestinal. El estudio mostró que el punto crítico responsable de la mayor parte de la variabilidad interlaboratorios se debía a la determinación de la actividad de la pepsina, por lo que, tras aclarar y armonizar la medida de dicha actividad, se procedió a un tercer ensayo de digestión. En esta ocasión, se puso de manifiesto que el protocolo depurado aumentaba la consistencia de los datos entre laboratorios y los hacía comparables (Egger et al., 2016, Food Res. Int., 88, 217-225). En la actualidad, se trabaja en un nuevo ensayo interlaboratorio para publicar el protocolo armonizado de digestión INFOGEST como método estándar ISO para determinar la digestibilidad proteica en productos lácteos. Evaluando además los distintos tipos de análisis de los productos de digestión proteica: i) determinación de nitrógeno total; ii) medida de los grupos amino libres (OPA); iii) análisis de aminoácidos libres. La confrontación de los datos ayudará a seleccionar cuál de estos procedimientos es el idóneo para el estudio de la digestibilidad proteica de esta matriz alimentaria. La información actualizada sobre el protocolo INFOGEST está disponible en Brodkorb et al., 2019, Nature Protocols, 14, 991-1014.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2017-83772-R y P20_00242 del Ministerio de Ciencia e Innovación y Junta de Andalucía, respectivamente.

EFFECTO DE CAMPOS ELÉCTRICOS PULSADOS (CEP) EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN SUBPRODUCTOS DE NARANJA

María del Carmen Razola-Díaz, Robert Sevenich, Eduardo-Jesús Guerra-Hernández, Oliver Schlüter, y Vito Verardo

RESUMEN: La piel de naranja es el principal subproducto de la industria de zumo de naranja. Este subproducto es una conocida fuente de compuestos bioactivos ampliamente estudiado por sus actividades antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antirreumática, antidiabética y cardioprotectora. Por ello la revalorización de este subproducto es de gran importancia. En este contexto, este estudio se centra en establecer las condiciones óptimas de tecnología de campos eléctricos pulsados (CEP) como pretratamiento al proceso de extracción de la piel de naranja para obtener extractos ricos en compuestos fenólicos, un objetivo enmarcado en el Proyecto Europeo SHEALTHY (<https://www.shealthy.eu/project/>). Para ello, se ha utilizado un diseño Box-Behnken de 15 experimentos con 3 factores independientes: anchura de pulso (μs), número de pulsos y energía del campo (kV/cm). En cada experimento el contenido fenólico fue extrahido mediante tecnología de ultrasonidos y fue analizado mediante HPLC-MS. Las variables de respuesta analizadas fueron el contenido en compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, ácidos fenólicos totales, y los dos compuestos mayoritarios, Hesperidina y Narirutina. La validez del diseño experimental fue confirmada mediante ANOVA y las condiciones óptimas fueron establecidas mediante metodología de superficie de respuesta. Con las condiciones óptimas de un CEP de 1.4 kV/cm y 30 pulsos de $110 \mu\text{s}$ se obtuvo una recuperación de 41.80 mg/g peso seco de compuestos fenólicos totales a partir de subproducto de naranja, un contenido un 20% mayor que el obtenido solo con extracción mediante ultrasonidos sin CEP como pretratamiento.

SUBPRODUCTOS DEL AGUACATE: UNA ESTRATEGIA NEUROPROTECTORA

Alejandro Rojas García, Abigail García Villegas, María del Carmen Villegas Aguilar, Patricia Fernández Moreno, María de la Luz Cádiz Gurrea, David Arráez Román y Antonio Segura Carretero.

RESUMEN: Durante las últimas décadas, en consonancia con un estilo de vida precipitado, el ser humano ha apostado por alimentos que, aunque ya se encuentran preparados, presentan diversas carencias en cuanto a su contenido nutricional. Esto ha desembocado en el desarrollo de importantes problemas relacionados con la alimentación, los cuales se han propagado por toda la población. Por ello, una de las apuestas de futuro más prometedoras consiste en el aumento de la disponibilidad de los alimentos funcionales que puedan proporcionar efectos saludables en el consumidor. En este sentido, las frutas tropicales y subtropicales cuentan con unas excelentes propiedades saludables por su alto valor nutricional y su contenido vitamínico y bioactivo, destacando su riqueza en compuestos fenólicos y polifenoles. Debido a la creciente demanda de estos compuestos bioactivos, la producción y el consumo de estas frutas se ha incrementado enormemente, llegando a países de todo el mundo. El mango, la piña, la chirimoya, el lichi, la guayaba y la papaya, entre otras, son hoy día ampliamente comercializadas. Una de las frutas que más relevancia ha adquirido a lo largo de estos últimos años es el aguacate, perteneciente a la familia de las Lauraceae y al género *Persea*. Tiene su origen en Centro América, pero ahora son sembradas y cosechadas en zonas muy diversas de todo el mundo. Algunas estimaciones reflejan que un total de 6 millones de toneladas pueden llegar a ser producidas anualmente a nivel mundial [1]. Por su alto contenido en ácidos grasos insaturados, carotenoides y vitaminas, la pulpa del aguacate ha sido intensamente explotada para su consumo en fresco, como ingrediente procesado en guacamoles o aceites, o en diversos productos de la industria cosmética. Sin embargo, esta superproducción trae también consigo un grave inconveniente: teniendo en cuenta que la proporción en peso de la semilla, la piel y la pulpa del aguacate es de alrededor de 16 %, 12 % y 72 % respectivamente, se estima que más de millón y medio de toneladas de subproductos de aguacate son desechados al año [2]. Esto convierte al aguacate en una fuente de residuos de alta peligrosidad para el medioambiente, por lo que el análisis de las propiedades de estas semillas y pieles, así como el estudio de diferentes alternativas y aplicaciones de las mismas, ha supuesto un avance significativo. Gracias a esto, hoy día sabemos que estos subproductos cuentan con una matriz bioactiva mucho más rica en compuestos fenólicos y polifenoles que la propia pulpa [3]. Por lo tanto, de acuerdo con la economía circular, la revalorización de estos restos como fuentes de compuestos bioactivos para la formulación de alimentos, nutracéuticos o cosméticos supondrían un interesante punto de partida para hacer frente a los niveles de contaminación asociados con su desperdicio. El poder antioxidante y antiinflamatorio de los compuestos fenólicos y polifenoles del aguacate han sido reportados en abundantes ocasiones, lo que justifica su capacidad para reducir la concentración de especies reactivas de oxígeno y, por tanto, los niveles de estrés oxidativo en el organismo [4]. Este fenómeno se ha relacionado con una serie de propiedades terapéuticas para el organismo, como por ejemplo el envejecimiento de la piel, la reducción de cardiopatías o la prevención de la neurodegeneración. Con respecto a esta última, nuestro grupo operativo plantea estrategias de tratamiento para enfermedades neurodegenerativas usando los subproductos del aguacate como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE). De este modo, se produce un aumento de la concentración de acetilcolina y, por tanto, mejora las condiciones de sinapsis neuronal [5].

[1] Salazar-López, N. et al. (2020). *Food Res. Int.* [2] Ayala, T. et al. (2014). "Sustainable Horticultural Systems", (Springer). [3] Kosinska, A. et al. (2012). *Agr. & Food Chem.* [4] Jyoti, D. et al. (2019). *Antiox.* [5] Ameer, K. et al. (2016). *Adv. Neurobiol.*

DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS FUNCIONALES A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AZUCARERA-ALCOHOLERA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS “AZUBIOACT”

Raquel del Pino García, Rosa Quirantes Piné, Isabel Borrás Linares, Asunción López Bascón y Rafael Biedma Ruiz.

RESUMEN: El objetivo general del proyecto persigue por lo tanto impulsar la política de Bioeconomía circular en la empresa Azucarera del Guadalfeo S.A. a través de una sustancial revalorización de sus principales subproductos (vinazas y lías), con el objetivo de diversificar su nicho de mercado y tejido productivo mediante la aplicación de técnicas de I+D+i en materia de revalorización focalizadas en obtener ingredientes/alimentos funcionales, así como interesantes productos cosmecéuticos. Como objetivos principales se encuentran i) el desarrollo y producción de nuevos ingredientes alimentarios/aditivos funcionales mediante la aplicación de tratamientos fermentativos y/o enzimáticos y sus combinaciones a partir de subproductos de la industria azucarera-alcoholera (vinazas y lías), ii) el estudio de la capacidad antigluceante, anticolesterolémica y antihipertensiva de los ingredientes alimentarios funcionales desarrollados y iii) la evaluación de la capacidad antioxidante y desarrollo de cosmecéuticos a partir de los aditivos funcionales desarrollados. Como objetivos específicos, el proyecto persigue el desarrollo de un proceso biotecnológico económico y viable industrialmente para la producción de ingredientes y alimentos bioactivos mediante la aplicación de procesos enzimáticos y/o fermentativos a partir de los subproductos de la industria alcoholera y la caracterización nutricional y funcional de los subproductos de la industria alcoholera y mejora de sus propiedades saludables potenciales (hipogluceantes, hipotensivas, hipocolesterolémicas, antioxidantes). Asimismo, también se espera la obtención a escala piloto y caracterización de los nuevos ingredientes alimentarios funcionales derivados del procesado biotecnológico de los subproductos (presentación final sólida y líquida) y la elaboración de alimentos funcionales (snacks y salsas) susceptibles de incluir declaraciones nutricionales y saludables a partir de los ingredientes desarrollados mediante la evaluación de su aceptabilidad por el consumidor y de su potencial saludables. Por último, se persigue la valuación del potencial antioxidante in vitro y ex vivo en cultivos de líneas celulares epiteliales de los ingredientes funcionales desarrollados (cosmecéuticos) y su formulación para el desarrollo de nuevos cosméticos.

POTENCIAL BIOACTIVO DE LA HOJA DE OLIVO EN PATOLOGÍAS CRÓNICAS

María del Carmen Villegas-Aguilar; María de la Luz Cádiz-Gurrea; Alejandro Rojas-García; Enrique Barrajón-Catalán; David Arráez-Román; Vicente Micol; Antonio Segura-Carretero

RESUMEN: Uno de los principales cultivos que se explotan en la zona mediterránea es el olivo, *Olea europaea*, cuyos frutos son empleados para la producción de aceite de oliva. Durante los últimos años existe un interés creciente sobre los subproductos (considerados residuos) de este sector oleico, destacando principalmente la hoja de olivo que, a día de hoy, es considerado un gran problema tanto económico como medioambiental [1]. De cada olivo se pueden obtener aproximadamente 25 kg de hojas/año, las cuales suponen el 5% del peso total de la cosecha. Así, dada la importancia de este sector en el tejido productivo de Andalucía, se generan anualmente más de 500.000 toneladas de hoja de olivo [2]. Existen numerosos trabajos que muestran el potencial bioactivo de diferentes familias de compuestos presentes en la hoja de olivo, entre las que destaca la familia de los compuestos fenólicos. Dentro de este grupo compuestos como el hidroxitirosol, la oleuropeína y sus derivados se encuentran en grandes cantidades en las hojas de olivo y han demostrado poseer potencial bioactivo. De sus propiedades bioactivas, la actividad antioxidante es la más destacada, aunque presentan también otras como actividad antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatoria, antiaterogénica y/o antihipertensiva [3]. Por todo ello, y dado el carácter pleiotrópico que poseen los compuestos fenólicos, estos están cada vez ganando más consideración en la prevención y tratamiento de enfermedades multifactoriales relacionadas con el estrés metabólico, la inflamación y el envejecimiento [3]. Sin embargo, estos polifenoles generalmente son metabolizados por los seres humanos siendo sus metabolitos resultantes los realmente responsables de buena parte de los efectos observados, ya que modulan múltiples vías metabólicas y tienen mecanismos de actuación en la expresión génica [4]. En este sentido es importante comprobar que los compuestos fenólicos con actividad demostrada pasen a la circulación sanguínea y ejerzan su efecto en las diferentes dianas metabólicas. Nuestro grupo de investigación tiene diferentes proyectos en los que se lleva a cabo el estudio de la hoja de olivo para su uso como fuente de compuestos bioactivos con actividad frente a diferentes patologías crónicas, repercutiendo con ello en su revalorización, sobre todo en mercados de clara expansión como el de alimentación funcional, nutracéutico y farmacéutico.

[1] Rodríguez, F. et al. (2015); *Ind. Crops Prod* [2] Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de la Junta de Andalucía. Cons. Agric. Pesca y Desarro. (2015) [3] Villegas-Aguilar, M. del C. et al. (2020); *Molecules* [4] Menendez, J. A., et al. (2013); *Cell Cycle*

PONENCIAS

1. Las claves para el diseño de ejercicio físico saludable adaptado a la mujer
2. Asociación del grosor de los músculos abdominales y la diástasis de rectos en el tercer trimestre de gestación con resultados maternos y neonatales asociados al parto
3. El `boom´ del running: ¿ángel o demonio?
4. El entrenamiento de baloncesto supera los beneficios cognitivos de un entrenamiento combinado de resistencia y fuerza
5. Índices de condición física y composición corporal materna durante el embarazo y el posparto: un estudio transversal del proyecto GESTAFIT
6. Variación diurna del efecto del ejercicio aeróbico sobre el metabolismo de la glucemia y la oxidación de grasas en humanos: rol del sexo y el peso corporal
7. El análisis exploratorio de datos como herramienta para el estudio y supervisión inteligente del entrenamiento en futbolistas: ejemplo de aplicación en los Small-Side Games
8. Efecto de un programa de ejercicio aeróbico con electroestimulación global sobre la condición física y la composición corporal en adultos sanos: el estudio aleatorizado controlado "ELECTRIFITY"
9. Entrenamiento concurrente: influencia de la secuencia de ejercicios sobre las adaptaciones en los componentes del fitness
10. Validez y fiabilidad de los sensores inerciales NOTCH para medir el ángulo del codo durante derecha de tenis a diferentes frecuencias de muestreo

LAS CLAVES PARA EL DISEÑO DE EJERCICIO FÍSICO SALUDABLE ADAPTADO A LA MUJER

Virginia A. Aparicio

RESUMEN: Los objetivos que se persiguen en la presente ponencia son sensibilizar al público de la necesidad del estudio diferencial en relación al entrenamiento en la mujer, conocer ciertas consideraciones relativas al entrenamiento y rendimiento físico en función del momento del ciclo menstrual y aportar información sobre cómo prevenir cuadros de triada en la mujer deportista. Para ello hablaremos brevemente sobre los antecedentes históricos sobre los que reflexionar en ciencia-mujer-deporte y sobre si somos metabólicamente diferentes hombres y mujeres y nuestras cualidades físicas y rendimiento físico difieren. También abordaremos si es necesario ajustar el entrenamiento y la dieta en función del ciclo menstrual o la toma de anticonceptivos, así como mitos y falsas creencias en torno al entrenamiento en la mujer que han pasado factura a su salud física y mental y a su rendimiento deportivo. Asimismo, también se darán ejemplos ligados a la triada de la mujer deportista o a la práctica de ejercicio por embarazos y se hablará de perspectivas futuras: ¿cuál es el potencial de la mujer si se adaptaran las técnicas y los sistemas de entrenamiento a su fisiología, antropometría y biomecánica específicas? ¿Cómo podría beneficiarse la gestante y su descendencia? El contenido de esta ponencia se apoya en la experiencia derivada de los proyectos GESTAFIT y GESTAFITOS.

ASOCIACIÓN DEL GROSOR DE LOS MÚSCULOS ABDOMINALES Y LA DIÁSTASIS DE RECTOS EN EL TERCER TRIMESTRE DE GESTACIÓN CON RESULTADOS MATERNOS Y NEONATALES ASOCIADOS AL PARTO

Laura Baena-García, Marta de la Flor-Alemaný, Irene Coll-Risco, Nuria Marín-Jiménez, Sandra Solaguren-Beascoa, Olga Ocón-Hernández, Virginia A. Aparicio.

RESUMEN: El objetivo del estudio es explorar la asociación del grosor de los músculos abdominales y la diástasis de rectos en el tercer trimestre de gestación con resultados maternos y neonatales asociados al parto. Para ello, ciento cincuenta y nueve embarazadas del proyecto GESTAFIT (media de edad, 32.9 ± 4.6 años e índice de masa corporal medio de 23.6 ± 4.1 kg/m²), participaron en este estudio longitudinal. El grosor de los músculos transverso abdominal, oblicuos internos y externos del abdomen fue evaluado mediante ultrasonografía de forma bilateral, tanto en reposo como en maniobra de hollowing. Del mismo modo, se midió la distancia entre ambos rectos abdominales, en reposo y en maniobra de crunch. En los músculos bilaterales, los análisis se hicieron con el promedio del grosor de ambos lados. Los resultados maternos y neonatales asociados al parto fueron recogidos de la historia obstétrica hospitalaria. Los valores de gasometría de la sangre arterial y venosa del cordón umbilical se analizaron inmediatamente después del parto. Se observó que en la semana 34 de embarazo, mayor grosor medio de los transversos del abdomen y oblicuos internos, se asoció con mayor presión parcial de oxígeno (PO₂) en vena umbilical, tanto en reposo (respectivamente, $r=0,326$ p<0,01 y $r=0,291$, ambos p<0,05) como en maniobra de hollowing (respectivamente, $r=0,249$ y $r=0,257$, ambos p<0,05). El grosor de los transversos del abdomen en hollowing se asoció positivamente con la saturación de O₂ en vena umbilical ($r=0,235$ p<0,05) y mejor puntuación del test de Apgar al minuto de vida en maniobra de hollowing ($r=0,256$ p<0,05). Respecto a la diástasis de rectos, mayor distancia entre ambos en reposo, se asoció con mayor presión parcial de dióxido de carbono (PCO₂) ($r=0,302$ p<0,001), menor PO₂ ($r=-0,256$ p<0,05) y menor saturación de O₂ ($-0,256$ p<0,05) en arteria umbilical, así como con un pH más bajo ($r=-0,225$ p<0,05) y mayor PCO₂ ($r=0,246$ p<0,05) en vena umbilical. Finalmente, la diástasis de rectos en crunch se relacionó positivamente con la PCO₂ de la arteria umbilical ($r=0,242$ p<0,05) y negativamente con la PO₂ y saturación de O₂ en la arteria umbilical (respectivamente, $r=-0,287$ p<0,05 y $r=-0,313$ p<0,01) y con el pH y la saturación de O₂ (respectivamente, $r=-0,240$ y $r=-0,251$, ambas p<0,05). En conclusión, un mayor grosor de los músculos del abdomen y menor diástasis de rectos durante el tercer trimestre de embarazo podrían promover mejores resultados neonatales asociados al parto.

EL `BOOM´ DEL RUNNING: ¿ÁNGEL O DEMONIO?

Felipe García Pinillos, Víctor Manuel Soto Hermoso

RESUMEN: El objetivo de esta breve ponencia es presentar nuestras líneas de investigación con corredores de resistencia, orientadas tanto a la optimización del rendimiento como al control del riesgo lesional en esta población. Especialmente, se pretende incitar a la reflexión crítica en torno al fenómeno del "running", a su práctica masiva por parte de la sociedad actual, y a su uso como medio de entrenamiento para la mejora de la condición física. Intentaremos dar respuesta a una serie de cuestiones que sugerimos en el título de esta ponencia: ¿Es el running una buena alternativa para ponernos en forma?, ¿es una modalidad deportiva segura y libre de lesiones? Para ello, nos apoyaremos en evidencia científica que denota, por una parte, las bondades de esta práctica deportiva, y por otra, los riesgos que implica para la salud (fundamentalmente, en términos de prevalencia lesional). Tras esta breve revisión de la literatura especializada, presentamos algunos puntos clave y mensajes concluyentes sobre esta temática.

EL ENTRENAMIENTO DE BALONCESTO SUPERA LOS BENEFICIOS COGNITIVOS DE UN ENTRENAMIENTO COMBINADO DE RESISTENCIA Y FUERZA

Iker Madinabeitia-Cabrera; Francisco Alarcón-López; Luis J. Chiroso-Ríos; Ignacio Pelayo-Tejo; David Cárdenas-Vélez

RESUMEN: Tanto los estudios transversales como los prospectivos han demostrado que los individuos con mejor condición física están asociados con una mejor neurocognición y funciones ejecutivas (FE; un compendio de capacidades cognitivas superiores) que las personas inactivas o sedentarias. Sin embargo, los resultados de los estudios de efectos crónicos no son del todo congruentes, quizás debido a la falta de control en algunas variables. La modalidad de entrenamiento de actividad física (AF) aplicada principalmente en estudios longitudinales ha sido el ejercicio aeróbico o de fuerza. Curiosamente, se ha informado de que su combinación en el programa de entrenamiento (AER + F) provoca grandes mejoras en lugar de por separado, aunque estos programas de entrenamiento no presentan ningún estímulo externo que exija a los individuos que presten su atención. Teniendo en cuenta que los investigadores han observado que las FE están vinculadas con procesos atencionales, es plausible que una AF con presencia de estímulos externos, como deportes de equipo dinámicos como el baloncesto, pueda servir como un excelente contexto para mejorar las FE. En este sentido, este estudio crónico con un grupo control tuvo como objetivo comparar los efectos sobre las FE tras realizar un programa de entrenamiento de 4 meses en baloncesto y AER + F por separado en estudiantes universitarios con bajos hábitos de AF. Los resultados observados fueron que solo en la inhibición se encontraron diferencias significativas entre los grupos: los beneficios logrados en el grupo de baloncesto fueron significativamente mejores que los de los grupos AER + F y control. Este resultado apoya la hipótesis de la estimulación cognitiva: se cree que las intervenciones que incluyen altas cantidades de compromiso cognitivo y esfuerzo físico tienen efectos más sustanciales que el ejercicio físicamente exigente con bajo compromiso cognitivo.

ÍNDICES DE CONDICIÓN FÍSICA Y COMPOSICIÓN CORPORAL MATERNA DURANTE EL EMBARAZO Y EL POSPARTO: UN ESTUDIO TRANSVERSAL DEL PROYECTO GESTAFIT

Nuria Marín-Jiménez, Irene Coll-Risco, Marta Flor-Alemany, Milkana Borges Cosic, Laura Baena-García, José Castro-Piñero, Virginia A. Aparicio.

RESUMEN: El objetivo del presente estudio transversal fue explorar la asociación de la condición física con los índices de composición corporal materna durante el embarazo y el posparto. Este estudio forma parte del proyecto GESTAFIT, donde 158 mujeres embarazadas ($32,9 \pm 4,7$ años) fueron evaluadas. Las evaluaciones se realizaron a las 16 y 34 semanas de gestación y al mes posparto. Se midieron objetivamente la capacidad cardiorrespiratoria, la fuerza muscular y la flexibilidad. Los índices de composición corporal se obtuvieron mediante absorciometría de rayos X de energía dual en el posparto. Se realizaron análisis de regresión lineal para explorar la asociación independiente de la capacidad cardiorrespiratoria, fuerza muscular y flexibilidad como predictores de los diferentes componentes de la composición corporal (variables dependientes). Los análisis fueron controlados por edad materna. Los valores en la semana 34 de gestación se ajustaron adicionalmente por la intervención de ejercicio llevada a cabo en el proyecto GESTAFIT. Los resultados de salud ósea se ajustaron además por el índice de masa corporal (IMC) previo al embarazo. La puntuación T ósea se definió como el número de desviaciones estándar por debajo del valor medio de mujeres jóvenes sanas, y la puntuación Z ósea se definió como el número de desviaciones estándar por debajo de la media de mujeres sanas de la misma edad. Los resultados extraídos fueron los siguientes: A las 16 y 34 semanas de gestación, una mayor capacidad cardiorrespiratoria se asoció con una menor grasa total, grasa androide y ginoide en el posparto (todos, $p < 0,05$). En la semana de gestación 34, una mayor capacidad cardiorrespiratoria también se asoció con una mayor densidad mineral ósea (DMO) de puntuación T en el posparto ($p < 0,05$). Mayores fuerza muscular y flexibilidad a las 16 semanas de gestación se asociaron con un IMC más bajo previo al embarazo y un mayor aumento de peso gestacional (todos, $p < 0,001$). A las 16 y 34 semanas de gestación, una mayor fuerza muscular y flexibilidad se asociaron con un menor peso corporal, IMC, masa grasa, masa grasa androide y ginoide en el posparto (todos, $p < 0,05$). Una mayor fuerza muscular a las 16 y 34 semanas de gestación también se asoció con una menor masa magra y masa libre de grasa, y con una mayor DMO en la puntuación T y la puntuación Z en el posparto (todos, $p < 0,05$). Mayor flexibilidad a las 16 semanas de gestación también se asoció con menor masa magra y masa libre de grasa en el posparto (todos, $p < 0,05$). En conclusión, este estudio revela que mayores niveles de condición física, especialmente fuerza muscular y flexibilidad, pueden promover una mejor composición corporal en el período perinatal.

VARIACIÓN DIURNA DEL EFECTO DEL EJERCICIO AERÓBICO SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCEMIA Y LA OXIDACIÓN DE GRASAS EN HUMANOS: ROL DEL SEXO Y EL PESO CORPORAL

Sevilla-Lorente R, Marmol-Perez A, Medrano M, Aragón-Vela J, Huertas JR, Lopez LC, Salmeron LM, Hidalgo-Gutierrez A, Ruiz JR, Amaro-Gahete FJ

RESUMEN: Las células de los mamíferos poseen “relojes” moleculares internos que controlan el metabolismo de todo el organismo a través de la regulación de genes llamados “genes reloj”. Este circuito está controlado por un reloj central autónomo ubicado en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo que, a su vez, está regulado por varios factores de carácter endógeno y exógeno. Estudios previos han puesto de manifiesto que la alteración de este reloj central a través de (i) la desregulación de las horas de sueño/vigilia, (ii) los patrones de alimentación irregulares y (iii) la falta de actividad física, pueden aumentar el riesgo de desarrollar obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Optimizar el potencial del ejercicio físico realizándolo en el momento del día en el que coincida con la mayor respuesta fisiológica de cada individuo supondría incrementar dicho potencial como herramienta terapéutica. Por tanto, el objetivo principal del presente proyecto es estudiar la variación diurna del efecto del ejercicio físico sobre el metabolismo de la glucemia y la oxidación de grasas en humanos, y los mecanismos moleculares implicados. Además, se estudiará si dicha respuesta es distinta en hombres y en mujeres. En este estudio participarán 40 personas físicamente inactivas con normo-peso (50% mujeres) entre 20 y 50 años. El diseño será cruzado y aleatorizado, donde cada participante realizará un mismo protocolo de ejercicio aeróbico de intensidad moderada por la mañana y por la tarde con una semana de separación entre sesiones y una duración de 60 minutos. Previamente, se realizará una prueba de esfuerzo máximo en cicloergómetro para la determinación de la capacidad aeróbica máxima, el segundo umbral ventilatorio para determinar la propia intensidad del protocolo de ejercicio (15% inferior al mismo) y la capacidad máxima de oxidación de grasas. Se evaluará el metabolismo de la glucosa a través de un monitor continuo insertado en la parte posterior del brazo derecho para registrar y almacenar los niveles de glucosa sanguínea cada 5 minutos durante 14 días consecutivos. El gasto metabólico y la oxidación de grasas en reposo, durante el ejercicio y durante los 60 minutos posteriores al ejercicio se evaluará mediante calorimetría indirecta. Se realizarán extracciones sanguíneas para medir la concentración plasmática de marcadores del metabolismo glucémico y perfil lipídico al inicio y al final del ejercicio. Además, se realizarán dos biopsias musculares en el vasto externo del cuádriceps antes del ejercicio e inmediatamente después. En el tejido muscular se analizará la expresión de proteínas y el ARN mensajero relacionados con el metabolismo de la oxidación de grasas. Se utilizará una parte del tejido fresco para evaluar el estado bioenergético mitocondrial mediante respiración mitocondrial. Durante el ejercicio también se realizarán registros periódicos de la temperatura central y distal así como de la zona supraclavicular donde se localiza el tejido adiposo pardo mediante el uso de botones térmicos. Existe suficiente evidencia científica acerca de los efectos beneficiosos del ejercicio sobre la regulación del metabolismo de la glucosa y la oxidación de grasas, sin embargo, se desconoce si existe un momento del día óptimo para maximizar los efectos del ejercicio sobre la salud. Este estudio va a determinar, por primera vez, si existe una variación diurna del efecto del ejercicio sobre el metabolismo de la glucemia y la oxidación de grasas en humanos, además de analizar los mecanismos moleculares implicados. Por otro lado, se estudiará si existe dimorfismo sexual en la variación diurna de la respuesta al ejercicio en persona con normo-peso. Encontrar el momento ideal para la realización del ejercicio físico es de interés científico, clínico y salud pública, teniendo una aplicación muy importante tanto en personas sanas como en personas con patología metabólicas o cardiovasculares.

EL ANÁLISIS EXPLORATORIO DE DATOS COMO HERRAMIENTA PARA EL ESTUDIO Y SUPERVISIÓN INTELIGENTE DEL ENTRENAMIENTO EN FUTBOLISTAS: EJEMPLO DE APLICACIÓN EN LOS SMALL-SIDE GAMES

Moisés Falces-Prieto, Francisco Tomás González-Fernández, Jaime Matas-Bustos y otros

RESUMEN: The aim of the present study was to analyze the behavior of players in a standard small-sided game (SSG) according to the role played (offensive (OF), defensive (DF), and wildcard (W)) and its relationship with physical demands (PHYD), technical performance (TP), and internal load (RPE). A total of 24 young highly trained male soccer players (under 16: n = 12; under 19: n = 12) participated. During the SSG, the players alternated the three roles (OF, DF, and W). The duration of each repetition was 4 min with a passive rest of 3 min between them. Furthermore, it emphasized the high demand in all defensive parameters. In addition, DF roles showed higher values in PHYD and RPE, followed by the OF roles, and finally by the W roles. A complementary, positive moderate correlation was found between PHYD and RPE in the U16 dataset ($r = 0.45$, $p < 0.006$). Very large positive correlations were also found between PHYD and RPE in the U19 and merged dataset ($r = 0.78$, $p < 0.001$ and $r = 0.46$, $p < 0.63$, respectively). This information could be useful for coaches in order to structure the roles in SSGs and control training load.

EFFECTO DE UN PRORAMA DE EJERCICIO AERÓBICO CON ELECTROESTIMULACIÓN GOBAL SOBRE LA CONDICIÒN FÍSICA Y LA COMPOSICIÓN CORPORAL EN ADULTOS SANOS: EL ESTUDIO ALEATORIZADO CONTROLADO “ELECTRIFFITY”

Unai A. Perez de Arrilucea¹; Abraham Carle-Calo ; Osvaldo Zegers Reinoso; Jonatan R. Ruiz; Francisco J. Amaro-Gahete

RESUMEN: La electroestimulación global de cuerpo (EMS) completo se ha convertido en una herramienta que, en combinación con el ejercicio voluntario, parece proporcionar beneficios adicionales sobre la salud en comparación con el ejercicio convencional. El presente estudio tuvo como objetivo investigar el efecto de un programa de entrenamiento aeróbico (EA) combinado con electroestimulación global de cuerpo completo (EMS) vs. un programa de EA sin EMS sobre la condición física y la composición corporal en adultos jóvenes sanos. Un total de 19 adultos (52.6% mujeres) con una media de edad de 26.6 ± 6.5 años y sin experiencia previa en entrenamiento con EMS participaron en el presente estudio. Se llevo a cabo una intervención de 4 semanas, con una frecuencia de 4 sesiones de entrenamiento por semana con una duración de 30-60 minutos. En cada sesión se incluyeron varios tipos de ejercicio de carácter aeróbico (i.e., cicloergómetro y elíptica) fijando la intensidad en 60-65% de la frecuencia cardiaca de reserva. La condición física se midió mediante el test “Course Navette” (fitness cardiovascular) y mediante ejercicios de remo, “mid thigh pull” y test del paso (fuerza muscular). Se observó una ausencia de diferencias significativas en las variables estudiadas entre ambos grupos. Ambas intervenciones mostraron ser efectivas para mejorar los niveles de condición física, los parámetros antropométricos y la composición corporal. Por tanto, los resultados de nuestro estudio sugieren que podría existir el llamado “efecto techo” cuando se aplican este tipo de intervenciones de 4 semanas sobre la condición física y la composición corporal en individuos jóvenes sanos. Curiosamente, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, se observaron mejoras clínicamente relevantes en el grupo de EA + EMS comparado con el grupo EA, en resultados específicos (es decir, + 14,83% frente a + 10,63% en el tiempo de Course Navette; + 5,36% frente a + 3,74% en Vo^2Max)

ENTRENAMIENTO CONCURRENTE: INFLUENCIA DE LA SECUENCIA DE EJERCICIOS SOBRE LAS ADAPTACIONES EN LOS COMPONENTES DEL FITNESS

Santiago Alejo Ruiz-Alias; Emilio José Ruiz-Malagón; Aitor Marcos-Blanco; Víctor Manuel Soto-Hermoso; Felipe García-Pinillos

RESUMEN: En un contexto donde la gran parte de la población carece de tiempo para desarrollar un programa de entrenamiento enfocado a la salud, el entrenamiento concurrente se establece como una estrategia eficiente para mejorar todos los componentes del fitness (1). Sin embargo, la combinación de ejercicios de fuerza y de resistencia requieren la consideración de cómo se adapta el sistema musculoesquelético a ambos estímulos (2). Este fenómeno de interferencia tanto en su fase aguda como crónica se acrecientan cuando no hay un tiempo de recuperación entre ambos por lo que sus diversas combinaciones deben de ser estudiadas (2). Por ello, el objetivo del presente estudio está en determinar si la secuencia de ejercicios en un programa de entrenamiento concurrente intra-sesión de 8 semanas de duración, presenta distintos efectos en los componentes del fitness en jóvenes adultos entrenados a un nivel recreacional. Un conjunto de 24 participantes fueron asignados a dos grupos experimentales que solo se diferenciaban en la secuencia de los ejercicios de fuerza y resistencia (i.e., F + R y R + F) para llevar a cabo un programa de entrenamiento concurrente intra-sesión de 8 semanas de duración, compuesto por 3 sesiones de 60 a 90 minutos por semana con ejercicios de sentadilla, press de banca, y esprints repetidos de alta intensidad. Tras una evaluación previa y posterior al programa de intervención, la secuencia de ejercicios no resultó ser significativa en el test de máxima repetición en sentadilla y press de banca ($p > 0.6$). Sin embargo, el grupo R + F mostró ciertas mejoras en el test de saltos en contramovimiento (-4.48 a 9.96 cm), salto en sentadilla (-3.42 a 10.12 cm), y sobre el consumo de oxígeno máximo (-1.96 to 8.21 ml/kg/min) determinado en un test incremental. En base a los resultados obtenidos, los profesionales del sector no deberían de dar importancia a la secuencia de ejercicios de un programa de entrenamiento concurrente intra-sesión para mejorar los componentes del fitness de forma general, al menos, durante las primeras fases del programa. El entrenamiento de resistencia de alta intensidad y de bajo volumen como los esprints repetidos de alta intensidad deberían de ser priorizados si objetivo está en maximizar las ganancias en el rendimiento neuromuscular y cardiovascular.

[1] Methenitis, S. (2018). A brief review on concurrent training: from laboratory to the field. *Sports*, 6(4), 127. [2] Wilson, J. M., Marin, P. J., Rhea, M. R., Wilson, S. M., Loenneke, J. P., & Anderson, J. C. (2012). Concurrent training: a meta-analysis examining interference of aerobic and resistance exercises. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 26(8), 2293-2307.

VALIDEZ Y FIABILIDAD DE LOS SENSORES INERCIALES NOTCH PARA MEDIR EL ÁNGULO DEL CODO DURANTE DERECHA DE TENIS A DIFERENTES FRECUENCIAS DE MUESTREO

Ruiz-Malagón, Emilio J.; Delgado-García, Gabriel; Castro-Infantes, Santiago; Ritacco-Real, Maximiliano; Ruiz-Álias, Santiago A.; Soto-Hermoso, Víctor M.

RESUMEN: Los sensores inerciales (IMU) se utilizan comúnmente en rehabilitación médica, análisis del rendimiento y cinemática en la mayoría de deportes. En tenis, el uso de este tipo de tecnología es cada vez más frecuente, ya que es una alternativa económica y portátil. El objetivo fue determinar la validez concurrente y la fiabilidad (variación dentro del sujeto) de los sensores inerciales NOTCH TM para medir el ángulo del codo durante el golpe de derecha a diferentes frecuencias de muestreo (100 Hz, 250 Hz y 500 Hz), comparando los datos con la medida criterio (sistema optoelectrico QualisysTM) (OS) en una muestra de tenistas de competición. Con base en la investigación anterior, planteamos la hipótesis de que los IMUs podrían ser una alternativa válida y económica para medir los ángulos de la articulación del codo en el golpe de derecha de tenis. La confirmación de esta hipótesis podría permitirnos ayudar a prevenir una de las lesiones más habituales en el mundo del tenis (el codo de tenista) mediante el análisis de la cinemática de los golpes, la corrección de la técnica de nuestros jugadores y todo ello en condiciones reales de juego. Se recopilaron datos de quince jugadores de competición sanos con experiencia jugando al tenis en competiciones regionales. Realizaron 6 series de 10 golpes de derecha cada una con los IMUs y OS midiendo simultáneamente (2 grabaciones a 100 Hz, 2 a 250 Hz y 2 a 500 Hz). Se registraron dos series en cada frecuencia de muestreo para analizar la fiabilidad de los IMUs (variación intra-sujeto). Todos los golpes de derecha realizados en el estudio se realizaron golpeando una bola de péndulo. Las señales procedentes de ambos sistemas fueron sincronizadas utilizando una hoja de Excel (Figure 1) y posteriormente se procedió a analizar el grado de acuerdo y la fiabilidad entre ambas. La magnitud del error (RMSE) fue tolerable ($5^\circ 0,05$) en los registros realizados a 100 Hz para los dos planos del codo (sagital y transversal), con un tamaño de efecto grande ($\geq 0,8$) en ambos planos. La variación intra-sujeto de la magnitud del error test-re-test mostró que no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los planos de codo y frecuencias de muestreo utilizadas. Este es el primer estudio que analiza la validez y fiabilidad de IMUs para medir los angulación de codo a diferentes frecuencias de muestreo durante el golpe de derecha del tenis. Los resultados indican que el sistema de medición inercial Notch® es una herramienta válida para medir los angulación de codo durante derecha de tenis a partir de una frecuencia de muestreo de 250 Hz. Basado en intervenciones de tenis anteriores, el rango de errores reportados es lo suficientemente bajo como para detectar los eventos más importantes del golpe, lo que lo convierte en una herramienta valiosa y económica para la experimentación de campo. Se requiere más investigación para establecer la fiabilidad (test-re-test) durante varios días y verificar la validez de las mediciones de Notch® en otras articulaciones anatómicas y deportes.

PONENCIAS

1. Uso de fitogénicos en la estrategia de reducción de antibióticos en ganadería
2. Evaluación de la actividad antimicrobiana de dos compuestos organosulfurados derivados de *Allium cepa* frente a patógenos de interés acuícola
3. Los líquenes xerofíticos como fuente de diversidad fúngica y potenciales agentes biopesticidas
4. Técnicas de imagen para el diagnóstico y seguimiento de patógenos vegetales
5. *Carnobacterium maltaromaticum* DMC-22, un potencial probiótico para nutrición animal

USO DE FITOGÉNICOS EN LA ESTRATEGIA DE REDUCCIÓN DE ANTIBIOTICOS EN GANADERÍA

M^a Arántzazu Aguinaga-Casañas, Enrique Guillamón, Alberto Baños

RESUMEN: El uso de antibióticos en ganadería como promotores de crecimiento y con fines preventivos sin diagnóstico previo se ha restringido en los últimos años debido a la aparición de bacterias resistentes que constituyen un grave problema de salud pública. Ante esta situación, los ganaderos demandan métodos alternativos que permitan reducir el uso de antibióticos sin disminuir la rentabilidad y calidad de su producción. Conseguir este objetivo implica una serie de prácticas que deben contemplarse en su conjunto como son las mejoras en bioseguridad, la reducción en la densidad de animales para reducir el estrés y estrategias nutricionales que potencien su salud mediante el uso de aditivos funcionales. Con respecto a este último punto, en la actualidad se están desarrollando múltiples alternativas para mejorar la salud y el bienestar de los animales entre las que se encuentran el uso de los probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, y especialmente los compuestos fitogénicos. En este sentido, los compuestos azufrados derivados de aliáceas (ajo y cebolla) y particularmente el propil propano tiosulfonato (PTSO) presenta numerosos efectos funcionales. Entre sus propiedades se ha descrito como antiparasitario y antimicrobiano de amplio espectro, modulador del microbioma intestinal o inmunopotenciador, situándose entre los fitobióticos de mayor relevancia para promover el estado de salud animal y mejorar los índices productivos. Su eficacia ha sido demostrada mediante diversos estudios *in vitro* e *in vivo* en las especies de producción más relevantes. En pollos de engorde, la adición de PTSO a la dieta no sólo mejoró significativamente la ganancia de peso y el índice de conversión asociado a una modulación de la microbiota intestinal [1], sino que, además, en animales desafiados con *Eimeria acervulina*, se redujo el número de ooquistes excretados en heces y evitó una disminución de la ganancia de peso con respecto al control, aumentando el título de anticuerpos frente a este parásito [2]. En gallinas ponedoras la suplementación de PTSO a la dieta produjo un aumento del número de huevos y del tamaño de los mismos, observándose también una disminución de enteropatógenos y un incremento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* a nivel intestinal [3], [4]. Del mismo modo, los estudios llevados a cabo en lechones destetados muestran un efecto modulador de la microbiota intestinal que se correlaciona con mejoras en los parámetros productivos, siendo estos similares a los obtenidos cuando se utiliza antibióticos como promotores del crecimiento [5]. Finalmente, la administración de PTSO en agua de bebida incrementó la ganancia media de peso de forma similar a la monensina y redujo el amonio y pH ruminal en corderos de engorde [6]. Estos resultados demuestran el potencial de PTSO como ingrediente fitogénico para mejorar el bienestar animal y mantener niveles productivos en diversas especies ganaderas. Además, la evidencia actual abre una ventana a futuros estudios en los que se analice su efecto en otros aspectos clave como la reducción de purines o la disminución de células somáticas en vacas lecheras.

[1] Peinado M.J. et al. *Poult. Sci.* 2012; 91 (9), doi: 10.3382/ps.2012-02280. [2] Kim D.K. et al. *Br. J. Nutr.* 2013; 109 (1) doi: 10.1017/S0007114512000530. [3] Abad P. et al. *Anim* 2021;11(1), doi: 10.3390/ani11010041. [4] Rabelo-Ruiz M. et al., *Anim.* 2021; 11(2), doi: 10.3390/ANI11020448. [5] Rabelo-Ruiz M. et al., *Antibiotics* 2021; 10(3), doi: 10.3390/antibiotics10030269. [6] Anassori E. et al. *Livest. Sci.* 2017; 199, doi: 10.1016/j.livsci.2017.03.014.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DOS COMPUESTOS ORGANOSULFURADOS DERIVADOS DE ALLIUM CEPA FRENTE A PATÓGENOS DE INTERÉS ACUÍCOLA

Ana Falcón-Piñeiro, Elias González-Gragera, J.D. García-López, Enrique Guillamón, M^a Arántzazu Aguinaga-Casañas, Alberto Baños*

RESUMEN: La intensificación de la acuicultura en los últimos años está propiciando la aparición de brotes infecciosos que causan importantes pérdidas económicas a nivel mundial. Aunque tradicionalmente se han utilizado antibióticos para controlar la aparición de distintas enfermedades bacterianas y micóticas, en la actualidad las restricciones legales y el incremento de las resistencias a antibióticos a limitado el uso de estos fármacos. Por otro lado, el desarrollo y aplicación de vacunas es costoso e inaccesible para muchos medianos y pequeños productores. Por ello, desde hace varias décadas se buscan alternativas naturales para combatir las enfermedades que afectan a la acuicultura y mejorar el sistema inmune de los peces. Estas alternativas han sido lideradas por prebióticos, probióticos y fitogénicos de plantas. Entre los últimos, los extractos de aliáceas ocupan un lugar destacado, habiéndose descrito por su capacidad para potenciar la inmunidad de los peces [1]. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar in vitro la actividad antimicrobiana de dos compuestos organosulfurados presentes en la cebolla (*Allium cepa*), el propil propano tiosulfonato (PTS) y propil propano tiosulfonato (PTSO). Para ello, se han utilizado diferentes metodologías de estudio como el test de difusión en agar, la determinación de las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) o la influencia en el desarrollo micelial, en el caso de microorganismos responsables de micosis como *Saprolegnia* spp. Ambos compuestos se han ensayado frente a una amplia selección de bacterias patógenas de peces, incluyendo *Flavobacterium columnare*, *Tenacibaculum maritimum*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Photobacterium damselae* subsp. piscicida o *Lactococcus garvieae*, entre otros. Los resultados han demostrado una significativa actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a todas las cepas bacterianas ensayadas, tanto Gram-positivas, como Gram-negativas y hongos micóticos, con valores de CMB comprendidos entre 15-125 µg/mL. Además, PTS y PTSO ejercieron un efecto fugiestático frente a *Saprolegnia* parasítica a la menor dosis ensayada. Dado que estos fitogénicos de aliáceas se han usado con éxito en otros sectores ganaderos como el avícola o porcino como ingredientes funcionales para mejorar la salud y el bienestar animal, estos resultados suponen un interesante antecedente para desarrollar su aplicación en acuicultura. No obstante, se requieren ensayos de eficacia in vivo que aporten mayor evidencia científica sobre los beneficios de usar estos fitogénicos en la nutrición de peces.

[1] Firmino JP, Galindo-Villegas J, Reyes-López FE, Gisbert E. Phytogetic Bioactive Compounds Shape Fish Mucosal Immunity. *Front Immunol.* 2021 Jun 18;12:695973. doi: 10.3389/fimmu.2021.695973. PMID: 34220858; PMCID: PMC8252966.

LOS LÍQUENES XEROFÍTICOS COMO FUENTE DE DIVERSIDAD FÚNGICA Y POTENCIALES AGENTES BIOPESTICIDAS

Víctor González-Menéndez, Rachel Serrano, Ignacio Fernández, Clara Toro, Guillermo Benitez, Manuel Casares, Fernando Reyes, Olga Genilloud.

RESUMEN: El SE de la península Ibérica es uno de los territorios más áridos de Europa, donde los suelos yesíferos ocupan un 7,2% de la superficie total. Este entorno tan extremo constituye un refugio único para la flora liquénica gipsícola, que alberga una gran variedad de especies endémicas, raras y/o amenazadas[1]. La falta de antecedentes sobre la diversidad de hongos liquenícolas en este entorno inhóspito nos impulsó a estudiar la comunidad fúngica cultivable de tres afloramientos yesíferos situados en Escúzar (Granada), Sorbas y Tabernas (Almería). Se recolectaron seis líquenes característicos del afloramiento yesífero de Escúzar (*Squamarina lentigera*, *Acarospora reagens*, *Gyalolechia fulgida*, *Lecidea circinarioides*, *Psora decipiens* y *Diplochistes diacapsis*), dos en el afloramiento de Sorbas (*Diploschistes ocellatus* y *Seiophora lacunosa*) y cuatro en el afloramiento de Tabernas (*Cladonia foliacea*, *Acarospora placodiformis*, *Squamarina lentigera* y *Xanthoparmelia pokornyii*). El aislamiento de cepas fúngicas se llevó a cabo mediante dos métodos: dilución a extinción y la desinfección del talo liquénico, combinando cinco medios de cultivo y dos temperaturas de incubación. Se aislaron un total de 3,448 cepas de las cuales 91 fueron obtenidas a partir de la desinfección de los talos liquénicos y 3,357 procedentes de aplicar la técnica de dilución a extinción a partir del homogeneizado de cada talo liquénico. Los aislados se agrupan en 21 órdenes taxonómicos diferentes, siendo el orden Pleosporales el más representado. Análisis filogenéticos basados en las secuencias ribosomales ITS y 28S confirman que la mayor diversidad taxonómica se obtuvo para los hongos aislados del talo liquénico incubados a 22°C, identificándose posibles nuevas especies fúngicas dentro de los órdenes Coniochaetales, Chaetothyriales, Lecanorales y Orbiliales. Para evaluar su potencial actividad como agentes biopesticidas, se seleccionaron 560 cepas fúngicas en base a su diversidad taxonómica y se cultivaron durante 14 o 21 días en varios medios de cultivo líquidos y sólidos. La actividad antifúngica de un total de 1,620 extractos fúngicos se ensayó frente a siete hongos fitopatógenos de interés en el sector agrícola. Los resultados obtenidos permiten afirmar que los líquenes desarrollados bajo estas condiciones extremas constituyen una importante fuente de especies fúngicas aun no descritas con potencial biotecnológico como posibles agentes biopesticidas.

[1] Guerra, J, Ros, R.M., Cano, M.J., Casares, M. 1995. Gypsiferous outcrops in SE Spain, refuges of rare, vulnerable and endangered bryophytes and lichens. *Cryptogamie. Bryologie, lichenologie* 16:125-135

TÉCNICAS DE IMAGEN PARA EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE PATÓGENOS VEGETALES

*Pineda, M., Pérez-Bueno, M.L., Barón, M**

Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas. Estación Experimental del Zaidín. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

RESUMEN: Los patógenos causan alteraciones en el metabolismo primario y secundario de las plantas hospedadoras, que conducen a descensos significativos en la calidad y producción de los cultivos. Los cambios en la fisiología de las plantas infectadas pueden estudiarse a través de técnicas de imagen que suministran información sobre diferentes procesos que tienen lugar en los vegetales, proporcionando “firmas de estrés” que son específicas de cada interacción planta-patógeno (Barón et al. 2016). Por tanto, estas técnicas ya se aplican de forma rutinaria en la agricultura de precisión y el fenotipado vegetal (Mahlein 2016). En combinación con las herramientas matemáticas que proporciona el machine learning, los datos obtenidos mediante estas técnicas sirven para calcular algoritmos capaces de clasificar plantas en infectadas o sanas, incluso en ausencia de síntomas (Behmann et al. 2015). En nuestros estudios con cultivos y patógenos de interés agronómico hemos monitorizado los cambios en la transpiración vegetal mediante termografía de imagen. La fluorescencia roja de la clorofila (Chl-FI) también nos proporcionó información sobre los procesos fotosintéticos, mientras que la fluorescencia multicolor (MCFI) reveló alteraciones en el metabolismo secundario de las plantas infectadas. Diferentes modelos matemáticos fueron capaces de proporcionar un alto rendimiento de clasificación entre plantas sanas e infectadas (Pérez-Bueno et al. 2016; Pineda et al. 2017). Nuestras investigaciones contribuyen a una Agricultura de Precisión en que los cultivos reciben insumos (agua, fertilizantes, productos biosanitarios, etc) sólo aquello que necesitan tras un diagnóstico de su estado utilizando distintos tipos de sensores como los termales o hiperespectrales situados en satélites, drones, plataformas de campo o en distintos tipos de robots.

[1] Barón, M., Pineda, M., and Pérez-Bueno, M. L. 2016. Z.Naturforsch. C. 71:355-368. [2] Behmann, J., Mahlein, A.-K., Rumpf, T., Römer, C., and Plümer, L. 2015. *Precis. Agric.* 16:239-260. [3] Mahlein, A.-K. 2016. *Plant Dis.* 100:241-251. [4] Pérez-Bueno, M. L., Granum, E., Pineda, M., Flors, V., Rodríguez-Palenzuela, P., López-Solanilla, E., and Barón, M. 2016. *Front. Plant Sci.* 6:1209. [5] Pineda, M., Luisa Perez-Bueno, M., Paredes, V., and Baron, M. 2017. *Funct. Plant Biol.* 44:563-572. [6] Pineda, M., Perez-Bueno, M. L., and Baron, M. 2018. *Frontiers in Plant Science*: 9, 164.

Estos trabajos se han financiado gracias al proyecto CICE-Junta de Andalucía (P12-AGR-0370), los fondos FEDER / Ministerio de Economía y Competitividad-CSIC (RECUPERA 2020/ 20134R060) y el proyecto RTI2018-094652-B-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIU), cofinanciado con fondos FEDER.

CARNOBACTERIUM MALTAROMATICUM DMC-22, UN POTENCIAL PROBIÓTICO PARA NUTRICIÓN ANIMAL

Elías González-Gragera, José David García, Manuel Martínez-Bueno, Alberto Baños

Departamento de Microbiología. Universidad de Granada. Campus de Fuente Nueva, S/N, Granada, España

RESUMEN: Los actuales sistemas de producción animal persiguen la producción libre de antibióticos, garantizando los niveles de productividad y de rentabilidad en las explotaciones. Uno de los métodos recomendados para asegurar el rendimiento e incrementar el bienestar animal mediante la prevención de procesos infecciosos y la mejora de la respuesta inmune es a través de intervenciones dietéticas capaces de modular el microbioma intestinal. En este sentido, en los últimos años el uso de probióticos, como las bacterias del ácido láctico (BAL), en la profilaxis y tratamiento de enfermedades gastrointestinales ha sido objeto de gran interés para el sector ganadero. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar las propiedades probióticas de la cepa *Carnobacterium maltaromaticum* DMC-22. Para ello se realizaron diferentes ensayos *in vitro* como el estudio de antibiosis frente a patógenos de interés en el sector ganadero (Alonso et al., 2018), resistencia a sales biliares y a las condiciones gastrointestinales (Ahire et al., 2011) y adherencia a líneas celulares animales (Pilchová et al. 2016). Los resultados obtenidos han demostrado la capacidad de antibiosis frente a la mayoría de las bacterias ensayadas como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas salmonicida* o *Yersinia ruckeri*, entre otras. Además, se observó inhibición bacteriana de los sobrenadantes de cultivo frente a todas las bacterias Gram-positivas, con especial interés en el caso de *L. monocytogenes*. Por otro lado, se observó una buena tolerancia a las condiciones del tracto gastrointestinal con supervivencia de *C. maltaromaticum* en un rango de pH de 3-6.5 y hasta una concentración de sales biliares de 1,5%. Finalmente, los ensayos de adherencia en líneas celulares MDBK (células de riñón de vaca) y CHSE-214 (células de embrión de salmon Chinook) demostraron una significativa tasa de adhesión (28-32% respectivamente). Además, los aspectos de seguridad como la ausencia de resistencias a antibióticos de ámbito clínico o la producción de aminas biógenas se han establecido, considerándose la cepa potencialmente segura. Estos resultados ponen de manifiesto el potencial de *C. maltaromaticum* DMC-22 como probiótico en producción ganadera. Los próximos pasos incluyen el estudio del genoma completo que permitirá conocer la naturaleza de los inhibidores y completar los aspectos de seguridad, así como ensayos de eficacia *in vivo* en diferentes especies animales.

[1] Ahire JJ, Patil KP, Chaudhari BL, Chincholkar SB. A potential probiotic culture ST2 produces siderophore 2,3-dihydroxybenzoylserine under intestinal conditions. *Food Chem.* 2011 Jul 15;127(2):387-93. [2] Alonso S, Carmen Castro M, Berdasco M, de la Banda IG, Moreno-Ventas X, de Rojas AH. Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2019 Jun;11(2):569-579. [3] Pilchová T, Pilet MF, Cappelier JM, Pazlarová J, Tresse O. Protective Effect of *Carnobacterium* spp. against *Listeria monocytogenes* during Host Cell Invasion Using *In vitro* HT29 Model. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016 Aug 26;6:88.

PONENCIAS

1. Genetics of Meniere disease
2. Generación de un modelo celular basado en células madre pluripotentes humanas con expresión de RBM15-MKL1 para el estudio de AMKL pediátrica
3. Implicaciones de la nucleótido hidrolasa DCTPP1 en estabilidad genómica y función mitocondrial
4. Factores de crecimiento y su posible aplicación en enfermedades raras
5. Desarrollo y puesta a punto de la primera herramienta de Terapia Génica para tratar el Síndrome de Bernard-Soulier
6. Variantes raras en el gen TECTA en la enfermedad de Meniere familiar autosómica dominante
7. Caracterización geno-fenotípica y estructural de una nueva variante de significado incierto del gen ALPL asociado a hipofosfatasa

GENETICS OF MENIERE DISEASE

Jose Antonio Lopez-Escamez, Pablo Roman-Naranjo, Alvaro Gallego-Martinez, Lidia Frejo

RESUMEN: Familial Meniere Disease (FMD) is a rare inner ear disorder characterized by episodic vertigo associated with sensorineural hearing loss, tinnitus and/or aural fullness. Segregation analyses and exome sequencing studies have identified ultrarare single nucleotide variants (SNVs) in 12 genes (FAM136A, DTNA, PRKCB, COCH, DPT, SEMA3D, STRC, HMX2, TMEM55B, OTOG, LSAMP and MYO7A). Most of these genes have been reported in singular families—the exception being the OTOG gene. Furthermore, we analyzed the pathogenicity of each SNV and compared its allelic frequency with reference datasets to evaluate its role in the pathogenesis of FMD. By retrieving gene expression data in these genes from different databases, we could classify them according to their gene expression in neural or inner ear tissues. Finally, we evaluated the pattern of inheritance to conclude which genes show an autosomal dominant (AD) or autosomal recessive (AR) inheritance in FMD. Our results support different models of inheritance including AD for FAM136A, DTNA, PRKCB, COCH, DPT, SEMA3D genes; compound recessive inheritance for the OTOG gene and digenic inheritance involving MYO7A and in the organization of the stereocilia links such as CDH23, PCDH15 or ADGRV1.

Funding CECEU P20_00303 (EPIMEN)

GENERACIÓN DE UN MODELO CELULAR BASADO EN CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES HUMANAS CON EXPRESIÓN DE RBM15-MKL1 PARA EL ESTUDIO DE AMKL PEDIÁTRICA

Mar Lamolda, Marina Voguel, Joaquin Olmedo, Pamela Mancuello, Joan Domingo, Gonzalo Martinez, Pedro Real, Veronica Ramos

RESUMEN: La Leucemia Megacarioblástica Aguda (AMKL) es un subgrupo de Leucemia Mieloide Aguda caracterizada por la acumulación de megacarioblastos anormales en médula ósea que ocasiona un bloqueo en la diferenciación megacariopoyética. La AMKL pediátrica no asociada a Síndrome de Down (non-DS AMKL), en la mayoría de los casos, produce células leucémicas con alteraciones cromosómicas que originan un oncogén de fusión. La AMKL t(1;22)(p13;q13) genera la proteína quimérica RBM15-MKL1 y se presenta en el 10% de los casos, exclusivamente en niños y lactantes (<8 meses) y con fenotipo agresivo. La non-DS AMKL RBM15-MKL1 es una enfermedad rara, por lo que, ha sido difícil la obtención de muestras de pacientes para su estudio molecular y celular. Además, los modelos animales que existen son muy poco representativos de la enfermedad humana. Dado que la AMKL t(1;22) tiene un origen uterino, en nuestro laboratorio hemos generado varios modelos celulares basados en células madre pluripotentes humanas (hPSC), tanto embrionarias (hESC) como inducidas (hiPSC) con el fin de estudiar el efecto del oncogén RBM15-MKL1 en la hematopoyesis embrionaria humana. Las líneas transgénicas generadas expresan el gen RBM15-MKL1 y conservan su pluripotencia. Determinamos la presencia de la proteína de fusión RBM15-MKL1 en ambas líneas y generamos clones por el método "single cell cloning" de las líneas control y transgénicas. Los clones seleccionados de ambas líneas fueron caracterizados a nivel celular y funcional mediante ensayos in vitro. Se comprobó que los clones hiPSC exhibían una mayor proliferación celular y un descenso en la expresión de genes y marcadores asociados a la pluripotencia con respecto a los controles. La expresión de RBM15-MKL1 también es capaz de incrementar la expresión de genes de la vía de Notch y del protooncogén c- Myc, que ya han sido descritos como alterados en pacientes. Ensayos preliminares de diferenciación con hiPSC muestran que la expresión de RBM15-MKL1 parece bloquear la generación de progenitores hematopoyéticos. Para un mejor estudio del efecto de RBM15-MKL1 en la diferenciación hematopoyética, en nuestro laboratorio estamos desarrollando por edición génica un modelo celular que puede inducir la expresión de la proteína de fusión por Doxiciclina en el momento deseado del desarrollo hematopoyético y así poder analizar el efecto de la oncoproteína de fusión de una manera más precisa y además, complementar los resultados que obtengamos con los modelos de hPSC ya generados. Los datos obtenidos muestran que nuestros modelos celulares generados de non-DS AMKL t(1;22) basados en hPSC constituyen una herramienta muy útil para el estudio de los mecanismos moleculares que podrían estar implicados en el desarrollo de esta leucemia, siendo de gran utilidad para descubrir nuevas dianas terapéuticas en el tratamiento de esta enfermedad y así poder realizar ensayos con fármacos más potentes y específicos.

IMPLICACIONES DE LA NUCLEÓTIDO HIDROLASA DCTPP1 EN ESTABILIDAD GENÓMICA Y FUNCIÓN MITOCONDRIAL

M. Belén Fernández López, Blanca Martínez-Arribas, Luis M. Ruíz-Pérez, Antonio E. Vidal, Dolores González-Pacanowska

Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra", Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Granada

RESUMEN: Un desequilibrio en los niveles de desoxinucleósidos trifosfato (dNTPs) tiene consecuencias biológicas de elevada trascendencia, como es un aumento de la inestabilidad genómica e implicación en el desarrollo de varias enfermedades como, síndromes de depleción mitocondrial y cáncer. El descubrimiento de la superfamilia de las nucleótido hidrolasas todo-alfa ha revelado la existencia de nuevas proteínas con funciones singulares en la homeostasis de nucleótidos. Específicamente, hemos establecido que la proteína humana dCTP pirofosfatasa 1 (DCTPP1) constituye una enzima altamente novedosa con un papel central en la modulación de los niveles de dCTP, catabolizando el dCTP a dCMP y pirofosfato. DCTPP1 se halla ubicuamente distribuida, encontrándose en el núcleo, citosol y mitocondria y además de dCTP, 5-metil-dCTP y nucleótidos 5-halogenados, la enzima hidroliza 5-formil-dCTP muy eficientemente [1]. Por tanto, DCTPP1 tiene un papel central de en el equilibrio del pool de dCTP y el metabolismo de análogos de desoxicitidina, contribuyendo potencialmente a la preservación de la integridad del genoma [2]. Una depleción o modificación del DNA mitocondrial (DNAm_t) puede conducir a varias patologías humanas, y diversos síndromes mitocondriales son debidos a defectos en la homeostasis de dNTPs, como por ejemplo MNGIE, que se caracteriza por alteraciones en la degradación de dTTP a causa de una deficiencia en la timidina fosforilasa. Existen dos rutas metabólicas que operan en las células para producir dNTPs, la vía de síntesis de novo y la de recuperación. En células post-mitóticas la síntesis de novo y las rutas citosólicas de recuperación no son funcionales dado que no hay replicación del DNA nuclear, aunque se sigue requiriendo la replicación y reparación del DNAm_t; aquí el pool de nucleótidos mitocondriales y la integridad del DNAm_t dependen fundamentalmente de la ruta de recuperación mitocondrial. Debido a que la disponibilidad de dNTPs es el factor clave que conduce a la depleción del DNAm_t, es plausible considerar que DCTPP1, que en células en estado quiescente se localiza de forma preferencial en la mitocondria, pueda estar jugando un papel esencial en el mantenimiento del pool de nucleótidos pirimidínicos mitocondriales, proceso imprescindible para la correcta replicación del DNAm_t. En este trabajo se describe un modelo de fibroblastos de pulmón en quiescencia como herramienta para el estudio del papel de DCTPP1 en mitocondria. Concluimos que el silenciamiento mediante RNA interferente de DCTPP1 en células en estado quiescente tiene un impacto significativo sobre algunas de las principales enzimas implicadas en el metabolismo de nucleótidos pirimidínicos lo que sugiere que puede tener un papel importante en el control de la homeostasis mitocondrial de dNTPs.

[1] a) Requena, C. E.; Perez-Moreno, G.; Ruiz-Perez, L. M.; Vidal, A. E.; Gonzalez-Pacanowska, D. *Biochem J.* 459:171-180; 2014. b) Requena, C. E.; Perez-Moreno, G.; Horvath, A.; Vertessy, B. G.; Ruiz-Perez, L. M.; Gonzalez-Pacanowska, D.; Vidal, A. E. *Biochem J.* 473:2635-2643; 2016. [2] Martínez-Arribas, B., Requena C.E., Pérez-Moreno, G., Ruíz-Pérez, L.M., Vidal, A.E. and González-Pacanowska, D. *Cell. Mol. Life Sci.* 77(8):1645-1660; 2019.

FACTORES DE CRECIMIENTO Y SU POSIBLE APLICACIÓN EN ENFERMEDADES RARAS

Ana Leticia Jiménez Escobar

RESUMEN: Las enfermedades raras son aquellas que afectan a un número pequeño de personas y que, por su rareza, plantean cuestiones específicas. En concreto, en Europa se considera que una enfermedad es rara cuando afecta a 1 persona de cada 2.000. Las enfermedades raras son habitualmente enfermedades graves, crónicas y progresivas, que con frecuencia aparecen desde el nacimiento o la infancia. Hasta la fecha, se han descubierto de seis a siete mil enfermedades raras y se describen con regularidad nuevos tipos en la literatura científica, permaneciendo aún desconocida la causa de muchas de estas enfermedades. Debido a todo ello, el ámbito de las enfermedades raras sufre un déficit de conocimientos médicos y científicos. Hasta hace muy poco no existía investigación real sobre ellas o una política de salud pública sobre las mismas. Muchas no tienen cura, pero un tratamiento médico adecuado puede mejorar la calidad de vida de estos pacientes. Muchas de estas enfermedades raras presentan diversa sintomatología relacionada con problemas en la piel y mucosas como la aparición de ampollas, descamación de la piel, heridas, erupciones, lesiones oculares, etc. Una de las posibles vías de investigación para el tratamiento de este grupo de enfermedades raras son los llamados factores de crecimiento. Los factores de crecimiento son polipéptidos naturales capaces de regular la respuesta celular para los procesos de migración, proliferación y diferenciación celular. Desempeñan un papel fundamental en la modulación de las respuestas inflamatorias, mejorando la formación de tejidos e induciendo la angiogénesis. Son esenciales para garantizar el éxito de los procesos de formación y remodelación de la matriz extracelular durante la cicatrización. Entre los diversos factores de crecimiento implicados en la regeneración de la piel o mucosas y, por tanto, en la cicatrización de heridas destacan: factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento queratinocítico (KGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Son muy numerosas las enfermedades raras que cursan con problemas dermatológicos o de las mucosas en donde podría tener utilidad el uso de dichos factores de crecimiento, como es el caso de la epidermolisis bullosa, penfigoide bulloso, pioderma gangrenoso, enfermedad de behçet, síndrome de Stevens Johnson, penfigoide gestacional, dermatitis herpetiforme, ictiosis y muchas otras. Durante la charla se abordará el mecanismo de actuación de cada uno de esos factores de crecimiento y su posible aplicación dentro del campo de las enfermedades raras.

DESARROLLO Y PUESTA A PUNTO DE LA PRIMERA HERRAMIENTA DE TERAPIA GÉNICA PARA TRATAR EL SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER

Martinez-Navajas, G; Ceron-Hernandez, J; Real, PJ.

RESUMEN: El Síndrome de Bernard-Soulier (SBS) es una enfermedad extremadamente rara caracterizada por problemas de coagulación sanguínea. Dicha patología surge cuando el receptor GPIB-V-IX, ubicado en la superficie de las plaquetas, no se expresa y, por tanto, no puede desempeñar su función. En condiciones normales este receptor permite la adhesión plaquetaria taponando las zonas de herida, siendo imprescindible para una correcta coagulación sanguínea. Se trata de una enfermedad de carácter autosómico recesivo originada por mutaciones en tres de los cuatro genes que codifican el receptor (GPIBA, GPIBB y GP9). Únicamente, el trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCs) entre hermanos genéticamente compatibles ha podido curar la enfermedad. Debido a las dificultades para encontrar donantes de HSCs histocompatibles, hemos propuesto una alternativa curativa basada en la terapia génica-celular. Nuestro objetivo es corregir las HSCs de los propios pacientes, realizando un trasplante autólogo de estas mismas células una vez editadas. De esta forma logramos evitar los problemas de histocompatibilidad asociados a los trasplantes de médula ósea. Para conseguirlo hemos generado diferentes vectores lentivirales (LVs) que sobreexpresan GP9 bajo un promotor específico del linaje megacariocítico (precursores plaquetarios), logrando así una terapia dirigida hacia plaquetas. Para probar la funcionalidad de estos LVs, hemos generado un modelo de SBS en una línea celular que expresa el complejo en superficie mediante la tecnología CRISPR-Cas9 (DAMI KO-GP9). Este modelo celular ya no expresa el receptor en superficie, sin embargo, al transducirlo con nuestros LVs la expresión del receptor se recupera. Este modelo nos permite seleccionar aquellos LVs que mejor recuperan la expresión del receptor in vitro. Por otro lado, hemos generado un modelo de SBS en células madre pluripotentes inducidas (iPSCs KO-GP9), el modelo más similar a las HSCs de los pacientes en el que probar las herramientas. Esta aproximación nos permite verificar el comportamiento de nuestros LVs a lo largo del proceso de diferenciación desde el estado pluripotente, pasando por HSCs y culminando con la generación de megacariocitos y plaquetas. Hemos comprobado mediante citometría de flujo e ImageStream que estos LVs recuperan la expresión del receptor, expresándose únicamente en el estadio final de la diferenciación. Además, este receptor corregido es perfectamente funcional ya que las plaquetas recuperan su capacidad de detectar heridas, adhiriéndose a ellas. Por otra parte, nuestras herramientas no son silenciadas epigenéticamente a lo largo del proceso de diferenciación, una de las mayores limitaciones a la hora de emplear LVs como herramienta de terapia génica. Estos experimentos validan la funcionalidad de estas novedosas herramientas de terapia génica, los vectores lentivirales, que logran recuperar la expresión del receptor GPIB-V-IX específicamente en plaquetas, habiendo desarrollado la primera herramienta de terapia génica dirigida hacia plaquetas para tratar el Síndrome de Bernard-Soulier. El siguiente paso en dirección a la fase preclínica es el tratamiento in vivo de HSCs de ratones KO para GP9, realizando la misma intervención que sería llevada a cabo en humanos. La recuperación de la capacidad de coagular en ratones sentaría las bases del primer tratamiento curativo para los pacientes que padecen SBS.

VARIANTES RARAS EN EL GEN TECTA EN LA ENFERMEDAD DE MENIERE FAMILIAR AUTOSÓMICA DOMINANTE

Pablo Roman-Naranjo, Alberto M. Parra-Perez, Paula Robles-Bolivar, Lidia Frejo, Jose Antonio Lopez-Escamez

RESUMEN: La membrana tectoria (MT) es una matriz extracelular que se localiza sobre el órgano de Corti y a la que, debido a esta posición, se le han atribuido diferentes funciones relacionadas con la audición. Esta matriz está compuesta principalmente por diferentes tipos de colágeno y tres proteínas específicas del oído interno: α -tectorina, β -tectorina y otogelina. La proteína α -tectorina, codificada por el gen TECTA, es una de las proteínas principales de la MT y de cuya función depende el correcto desempeño del canal de mecanotransducción localizado en la células ciliadas internas del órgano de Corti. De hecho, variantes raras que modificaban este gen ya han sido asociadas a diferentes tipo de hipoacusia neurosensorial (DFNA8/12-DFNB21). La enfermedad de Meniere (EM) es una enfermedad rara del oído interno caracterizada por hipoacusia neurosensorial de baja frecuencia junto a episodios de vértigo y acúfenos. El hecho de la existencia de agregación familiar en esta enfermedad hace posible plantear la hipótesis de la existencia de un factor genético en la EM. Recientemente, mediante secuenciación de exoma, hemos podido definir dos genes candidatos para la EM familiar: 1) el gen OTOG, presente en la MT, en el cual encontramos variantes en 15 familias no relacionadas y 2) el gen MYO7A, presente en las células ciliadas del oído, el cual podría mediar una herencia heterocigota compuesta en otras 9 familias. En este trabajo, mediante secuenciación de exoma completo en 99 pacientes con EM (77 familias), hemos podido observar la existencia de variantes raras y deleciones en el gen TECTA en 9 pacientes de 6 familias no relacionadas (figura 1). Estas familias parecen seguir un patrón de herencia dominante donde las variantes en TECTA podrían estar afectando a la interacción entre las proteínas de la MT, desestabilizando así esta matriz proteica y provocando pérdida de audición.

Este proyecto esta financiado parcialmente por H2020-SC1-2019-848261 (UNITI) y por CECEU PY20-00303 (EPIMEN).

CARACTERIZACIÓN GENO-FENOTÍPICA Y ESTRUCTURAL DE UNA NUEVA VARIANTE DE SIGNIFICADO INCIERTO DEL GEN ALPL ASOCIADO A HIPOFOSFATASIA

Raquel Sanabria-de la Torre, Luis Martínez Heredia, Cristina García-Fontana, Sheila González-Salvatierra, Francisco Andújar-Vera, Iván Iglesias-Baena, Juan Miguel Villa-Suárez, Manuel Muñoz-Torres, Beatriz García-Fontana.

RESUMEN: La hipofosfatasa (HPP) es una enfermedad genética rara, grave y potencialmente mortal causada por una o varias mutaciones en el gen ALPL que codifica para la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP). Este trastorno se caracteriza por una deficiente mineralización ósea y por alteraciones en la regulación de los fosfatos y del calcio que dan lugar a un deterioro progresivo de numerosos órganos vitales. Debido a su baja prevalencia, este trastorno metabólico suele estar infradiagnosticado. Su sintomatología inespecífica lleva frecuentemente a un diagnóstico equivocado confundiendo con otros trastornos óseos más prevalentes. En este estudio se lleva a cabo la caracterización de la nueva variante genética c. 1135C>A (His379Asn) del gen ALPL a nivel funcional y estructural. Además, se establece una relación entre los datos estructurales y funcionales de la variante con las manifestaciones clínicas del paciente afectado. Para ello se estudió la historia clínica del paciente afectado. Se realizaron pruebas de caracterización fenotípica expresando la variante descrita en cultivos de células embrionarias de riñón HEK293T para determinar la actividad fosfatasa alcalina (ALP). Por otro lado, mediante estudios bioinformáticos se representaron los modelos estructurales 3D de las proteínas wild-type (WT) y mutante mediante las herramientas SWISS MODEL y UCSF Chimera. En las células transfectadas con la mutación, la expresión de ALP fue muy inferior en comparación con las células transfectadas con el gen WT. Además, en el modelaje tridimensional se pudo observar que la proteína TNSALP mutada se caracterizaba por la pérdida de dos sitios de unión a zinc. Dado que estos sitios son esenciales para la función de la proteína, sugerimos que esta mutación es la responsable de la drástica reducción de la actividad enzimática que se asocia a una sintomatología de moderada a grave de HPP en el adulto.

PONENCIAS

1. Técnicas de reponderación con XGBoost en encuestas longitudinales
2. Evolución de la incidencia de melanoma de piel según tipo histológico en la provincia de Granada en el periodo 1985-2016
3. Determinación Disruptores Endocrinos Obesógenos en orinas infantiles mediante Cromatografía Líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem
4. Desigualdades socioeconómicas en la incidencia de cáncer de colon-recto, pulmón y mama en la provincia de Granada
5. Desigualdades socioeconómicas en cáncer de pulmón: una umbrella de revisiones sistemáticas
6. Análisis mediante Bayesian Kernel Machine Regression de la asociación entre mezclas de metales pesados y riesgo de cáncer de próstata en la cohorte EPIC
7. Coste-efectividad de las estrategias de cribado para la prevención primaria de enfermedades cardiovasculares
8. Efectos de un programa a distancia en cuidadores de pacientes con ictus crónico y disfagia: estudio piloto

TÉCNICAS DE REPONDERACIÓN CON XGBOOST EN ENCUESTAS LONGITUDINALES

Luis Castro Martín, María del Mar Rueda García, Andrés Cabrera León, Carmen Sánchez-Cantalejo Garrido, Ramón Ferri García

RESUMEN: El uso de encuestas longitudinales es ampliamente conocido en el mundo sanitario para analizar el desarrollo a lo largo del tiempo de variables de interés. Sin embargo, la fatiga de la población al ser encuestada reiteradamente causa problemas de no-respuesta que deben ser tenidos en cuenta. En este trabajo proponemos una serie de novedosas técnicas de reponderación para corregir dichos problemas. El procedimiento consta de varios pasos para aprovechar tanto la información auxiliar a nivel poblacional como la información auxiliar a nivel individual. La no-respuesta de los individuos de una medición a otra es modelada mediante el conocido algoritmo XGBoost, combinado con otras técnicas del estado del arte del machine learning. Aplicamos los métodos propuestos a la ESSOC (Encuesta Sanitaria y SOcial), un proyecto de investigación cuyo objetivo es recolectar datos fiables sobre el impacto a lo largo del tiempo de la COVID-19. La ESSOC se centra en variables que puedan ser de utilidad a la hora de tomar medidas contra la pandemia (sanitarias, socioeconómicas, psicosociales, conductuales, ocupacionales, ambientales y clínicas) sobre la población general así como sobre colectivos especialmente vulnerables.

EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA DE MELANOMA DE PIEL SEGÚN TIPO HISTOLÓGICO EN LA PROVINCIA DE GRANADA EN EL PERIODO 1985-2016

Daysis Yoe-Ling Chang-Chan, Teresa Ródenas-Herranz, Miguel Rodríguez-Barranco, Daniel Redondo-Sánchez, Oscar Mendoza-García, Ricardo Ruiz-Villaverde, María José Sánchez-Pérez.

RESUMEN: El melanoma cutáneo (MC) es un tumor de origen melanocítico que representa un 2-7% de los tumores cutáneos si bien es el responsable del 80% de las muertes por cáncer de piel y del 1-2% de todas las muertes por cáncer. En las últimas décadas se ha observado una tendencia al aumento de su incidencia, sobre todo en las poblaciones de países desarrollados, caucásicos y con un gradiente Norte-Sur, atribuido a cambios en los estilos de vida y a la disminución de la capa de ozono. Así mismo, existe un debate en curso sobre si esta tendencia refleja o no un sobrediagnóstico de casos indolentes tras el mayor uso de biopsia de piel. Sin embargo, según estimaciones de GLOBOCAN-2020, España presenta una tasa de MC (6,8 x 100.000 hab.) inferior a la media europea (11,4 x 100.000 hab.). El objetivo de este trabajo es analizar la evolución de la tendencia temporal de la incidencia del MC según el tipo histológico en la provincia de Granada en el período 1985-2016 por sexo y grupo de edad. Se incluyeron los casos incidentes de MC del Registro de Cáncer de Granada, residentes en la provincia de Granada durante el período 1985-2016 (código C43 según la CIE-10). Se clasificaron de acuerdo a los siguientes grupos histológicos: léntigo maligno (LM), melanoma de extensión superficial (MES), melanoma nodular (MN), lentiginoso acral (LA) y otros tipos histológicos no especificados (NOS). Se estandarizaron las tasas de la incidencia por la población mundial y se analizó la evolución de las tasas específicas por edad por sexo y grupos de edad (80). El análisis de tendencias se realizó mediante regresión loglineal (Joinpoint regression), estimando el Porcentaje de Cambio Anual (PCA) e intervalos de confianza al 95%. Se utilizaron los software estadísticos Stata v17 para el cálculo de las tasas y JoinPoint 4.4 para el análisis de tendencias. En el período 1985-2016 se registraron un total de 2.340 casos nuevos de MC, de los cuales el 55% fueron mujeres. Las tasas estandarizadas de incidencia para el último período fueron de 9,0 x 100.000 habitantes, superiores que las estimadas para el conjunto de España por GLOBOCAN-2020, siendo las mujeres las que presentan una mayor tasa que los hombres (9,4 vs 8,6 por cada 100.000 mujeres y hombres respectivamente). Durante 2007-2016, los MES son el tipo histológico más frecuente (5,6 x 100.000 hab.), tanto en mujeres (6,1 x 100.000 mujeres) como en hombres (5,2 x 100.000 hombres). Desde 1985 y hasta 2006 las personas con más de 80 años presentaron las tasas más altas, pero en el período 2007-2016 fue el grupo de 65-79 años el que presentó tasas superiores al resto (29,59 x 100.000 hab.). Se observó un incremento estadísticamente significativo en la tendencia de la incidencia del MC tanto en hombres como en mujeres (PCA: +4,6% y +4,0% respectivamente). Por tipo histológico se observó un PCA= +8,8% (estadísticamente significativo) en ambos sexos para el MES. En cambio, el MN presentó una tendencia ascendente hasta 2005 (PCA= +4,7%) y descendente a partir de ese año (PCA = -6,9%), siendo estos cambios estadísticamente significativos. Para LA se observó una estabilización durante todo el período (PCA = -0,5%). La incidencia de MC en la provincia de Granada sigue una tendencia ascendente tanto en hombres como en mujeres, con un aumento del +4,2% anualmente. Este aumento se debe principalmente al incremento de incidencia de MES en ambos sexos, que es además el tipo histológico más frecuente. Estos resultados son concordantes con los de otros estudios europeos. Este incremento de la incidencia podría estar relacionado con la mejor accesibilidad de los pacientes a las consultas de Dermatología, las campañas de revisión de nevus que anualmente se realizan bajo el auspicio de la Asociación Española contra el Cáncer y la Fundación Piel Sana de la AEDV y con la mejora en la precisión de los métodos de diagnóstico por imagen: dermatoscopia manual, digital y microscopía confocal.

DETERMINACIÓN DISRUPTORES ENDOCRINOS OBESÓGENOS EN ORINAS INFANTILES MEDIANTE CROMATOGRFÍA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM

Gálvez-Ontiveros Yolanda; Moscoso-Ruiz Inmaculada; Almazán Vega; Castillo Helga; Tovar Mercedes; Ortega Eduardo; Gonzales-Palacios Patricia; Rivas Ana; Zafra-Gómez Alberto.

RESUMEN: Los disruptores endocrinos obesógenos (DEOs) son contaminantes emergentes que debido su uso masivo en las últimas décadas han llegado al medio ambiente, siendo la dieta una de las principales vías de exposición a éstos. Entre los DEOs más conocidos están los bisfenoles (BPs) y parabenos (PBs). Estos DEOs van mimetizar la actividad hormonal, a promover y regular de forma inapropiada la adipogénesis y la acumulación de lípidos en humanos y animales, entre otros efectos adversos sobre la salud. Aunque se sabe que una mala alimentación y la inactividad física contribuyen a la ganancia de peso, estos DEOs también pueden estar influyendo en las tasas crecientes de obesidad a nivel mundial. Es importante resaltar que la exposición a DEOs durante las primeras etapas de la vida y la infancia es de especial importancia ya que son etapas cruciales del desarrollo, por ello, los niños son un grupo de población especialmente vulnerable a la exposición de DEOs. El objetivo del trabajo es determinar la presencia de DEOs en la orina de escolares de la provincia de Granada. Para ello, se han reclutado un total de 240 niños de la provincia de Granada con la ayuda de pediatras de diferentes centros de salud de la provincia. Las muestras de orina fueron recogidas en la consulta en botes de orina previamente analizados para garantizar la no presencia de los DEOs en su composición. La extracción de los DEOs en orina se llevó a cabo mediante extracción líquido-líquido dispersiva descrito por Vela-Soria et al., 2014, seguido de detección analítica por UPLC-MS/MS, extrayéndose un total de 96 orinas. De las 96 muestras de orina analizadas se detectó la presencia de DEOs en el 100% de las muestras. Los DEOs más frecuentemente detectados en orinas en orden creciente fueron metilparabeno (100 %), BPA (40%), etilparabeno (33 %) y propilparabeno (13%). Concluimos que la presencia de obesógenos en la orina es una evidencia más de la exposición a estos contaminantes químicos ambientales. Los parabenos son los compuestos más detectados en las muestras en comparación con el BPA y sus análogos. Esto puede deberse a que se permite el uso del metilparabeno y etilparabeno como aditivos alimentarios (E218 y E214) y sus sales de sodio (E219 y E215). En cuanto a los bisfenoles, el BPA y sus análogos han sido detectado en un número considerable de muestras. BPA sigue siendo el bisfenol mayoritario presente en nuestro medio. Sin embargo, en la última década la industria del plástico ha comenzado a sustituirlo por sus análogos, debido a la alarma genera por sus efectos adversos sobre la salud.

DESIGUALDADES SOCIOECONÓMICAS EN LA INCIDENCIA DE CÁNCER DE COLON-RECTO, PULMÓN Y MAMA EN LA PROVINCIA DE GRANADA

Daniel Redondo Sánchez, Miguel Rodríguez Barranco, Marina Pollán, Pablo Fernández, Miguel Ángel Luque Fernández, María José Sánchez Pérez.

RESUMEN: La incidencia de cáncer es un importante problema de salud pública en la provincia de Granada, con una incidencia estimada para el año 2021 de 4,572 casos nuevos de cáncer, sin incluir el cáncer de piel no melanoma. Las desigualdades socioeconómicas pueden jugar un importante papel en los factores de riesgo conocidos para los tumores de pulmón, colon-recto y mama. En este trabajo realizamos un estudio multinivel de cohortes de base poblacional. Se incluyeron los casos nuevos de cáncer de colon-recto, pulmón y mama diagnosticados durante el periodo 2010-2014 en la provincia de Granada. Los casos incidentes se geocodificaron y se les asignó el índice de privación de su sección censal. Se modelizó la incidencia con un modelo de Poisson de efectos mixtos con efecto aleatorio para las secciones censales, y se mapeó la incidencia ajustada por índice socio-económico y edad, suavizada mediante modelos espaciales bayesianos. En los resultados vemos que los hombres de nivel socioeconómico más bajo, comparados con los de nivel socioeconómico más alto, tuvieron mayor riesgo de cáncer de pulmón (risk ratio: 1.18, 95% CI: 0.94–1.46) y menor riesgo de cáncer de colon-recto (risk ratio 0.84, 95% CI: 0.74–0.97). Las mujeres de nivel socioeconómico más bajo, comparadas con las de nivel socioeconómico más alto, tuvieron menor riesgo de cáncer de mama (risk ratio: 0.76, 95% CI: 0.68–0.85). En mujeres no se encontró asociación entre nivel socioeconómico e incidencia de cáncer de colon-recto o pulmón. Tras ajustar por edad y nivel socioeconómico y suavizar las tasas de incidencia, se detectaron algunos patrones en la distribución geográfica del cáncer de pulmón, con baja incidencia en la capital, salvo en zonas como El Zaidín, Almanjáyar y La Chana. La incidencia de cáncer de mama y colon-recto se concentra en la capital de Granada, con baja incidencia en el resto de la provincia. En conclusión, se observaron importantes diferencias en la distribución de la incidencia por áreas geográficas. Los resultados deben interpretarse a nivel poblacional para evitar la falacia ecológica, y extraer conclusiones con cautela dado el corto periodo de tiempo estudiado. Es importante conocer las causas subyacentes de las diferencias encontradas para poder reducir las desigualdades en salud existentes.

DESIGUALDADES SOCIOECONÓMICAS EN CÁNCER DE PULMÓN: UNA UMBRELLA DE REVISIONES SISTEMÁTICAS

Daniel Redondo Sánchez, Dafina Petrova, José Juan Jiménez-Moleón, Pablo Fernández Navarro, Marina Pollán, María José Sánchez Pérez

RESUMEN: El cáncer de pulmón fue el segundo cáncer más frecuente en el año 2020 en todo el mundo (2,2 millones de casos incidentes), y el cáncer con mayor mortalidad (1,8 millones de defunciones). Estos indicadores epidemiológicos, unidos a una baja supervivencia, hacen del cáncer de pulmón un importante problema de salud pública. El nivel socioeconómico es un factor que puede producir importantes desigualdades en el riesgo de cáncer de pulmón y su mortalidad. El objetivo de este trabajo fue sintetizar la evidencia disponible sobre desigualdades socioeconómicas en diversos indicadores relacionados con el cáncer de pulmón mediante una revisión de revisiones sistemáticas. Como criterios de selección se usaron revisiones sistemáticas, publicadas en cualquier idioma, sobre la relación de indicadores socioeconómicos (individuales o geográficos) con indicadores relacionados con el cáncer de pulmón incluyendo la incidencia, mortalidad, supervivencia, y otros indicadores relacionados con el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad (cribado, acceso a test diagnósticos o tratamientos...). Se excluyen aquellas que se centran en otros tipos de desigualdades (racial, de género, entorno rural-urbano...), aquellas que no informan de resultados específicos para cáncer de pulmón, y aquellas que reportan sobre resultados solo indirectamente relacionados con el cáncer de pulmón (por ejemplo, prevalencia de tabaquismo u otros factores de riesgo). La revisión ha sido registrada en PROSPERO con el ID 282194. Estas revisiones se buscaron en PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar desde el año 2010 hasta la fecha de la búsqueda (26 de octubre de 2021). Para gestionar la revisión se utilizó el software online Covidence. Dos investigadores (DRS y DP) cribaron los estudios de manera independiente y simultánea en base a título y resumen (primera fase) y texto completo (segunda fase). La extracción de datos se realizó por un investigador y posteriormente fue revisada por el segundo. La calidad de los estudios se evaluó usando la escala AMSTAR-2 adaptada a revisiones sistemáticas de estudios observacionales. Se identificaron 267 publicaciones de las que 8 cumplieron los criterios de selección y entraron en la revisión. Los estudios seleccionados cubren una amplia variedad de indicadores en cáncer de pulmón: supervivencia, mortalidad, tratamientos, cribado, presentación de emergencia y estadio al diagnóstico. Un nivel socioeconómico más bajo se asoció con una peor supervivencia y mayor mortalidad del cáncer de pulmón. Estas desigualdades parecen estar explicadas en parte por la recepción de tratamiento y la presencia de comorbilidades. Los pacientes con nivel socioeconómico más bajo tienen menor probabilidad de recibir tanto tratamientos tradicionales (p. ej., cirugía o quimioterapia), como tratamientos de última generación (los tratamientos biológicos y de medicina de precisión). Por otro lado, es más probable que estos pacientes más privados socioeconómicamente presenten urgencias por cáncer de pulmón, sean diagnosticados en estadios más tardíos o tengan menor probabilidad de entrar en el proceso de cribado. La conclusión es que las desigualdades socioeconómicas en el contexto del cáncer de pulmón, que alcanzan tanto el acceso a pruebas diagnósticas como el acceso a tratamiento, podrían explicar la peor supervivencia por cáncer de pulmón de personas con un bajo nivel socioeconómico.

Financiación: High resolution study of social inequalities in cancer (HiReSIC). Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) (PROYE20023SÁNC). Subprograma de Vigilancia Epidemiológica del Cáncer (VICA), del CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

ANÁLISIS MEDIANTE BAYESIAN KERNEL MACHINE REGRESSION DE LA ASOCIACIÓN ENTRE MEZCLAS DE METALES PESADOS Y RIESGO DE CÁNCER DE PRÓSTATA EN LA COHORTE EPIC

Rodríguez Barranco M, dos Santos Gonçalves K, Jimenez Moleón JJ, Gómez-Ariza JL, Sánchez MJ

RESUMEN: El cáncer de próstata es el cáncer más frecuente en varones en España, excluyendo el cáncer de piel no melanoma. Los factores de riesgo ambientales, como la exposición a metales pesados, y sus asociaciones con el riesgo de cáncer de próstata se han estudiado ampliamente. Sin embargo, el efecto de la co-exposición a varios metales pesados ha sido poco estudiado y sus resultados son aún inconcluyentes. El objetivo fue examinar la asociación entre la exposición a mezclas de metales pesados y el riesgo de cáncer de próstata en la cohorte EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition). La cohorte EPIC-Granada se reclutó en 1996 y tiene identificados los casos incidentes de cáncer hasta el 31/12/2012. Se midieron mediante ICP-ORS-MS las concentraciones de 15 metales pesados (As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Pb, Sb, Se, V, W, Zn) en muestras de suero del reclutamiento de 304 hombres de la cohorte EPIC-Granada (62 casos de cáncer de próstata identificados en el seguimiento y 242 sujetos sin la enfermedad). Se aplicó el método "Bayesian kernel machine regression distributed lag models" (BKMR-DLM) para estimar la asociación entre las concentraciones de metales con el riesgo de cáncer de próstata, ajustado por posibles factores de confusión. La utilización de BKMR-DLM permite tener en cuenta las relaciones no lineales, interacciones, efectos conjuntos y el efecto acumulativo variable en el tiempo de las exposiciones a mezclas de metales pesados. Cuatro metales pesados (W, Cu, Hg, V) se asociaron significativa y positivamente con el riesgo de cáncer de próstata en los modelos ajustados por edad, educación, actividad física, relación cintura-cadera, índice de masa corporal, patrones dietéticos, tabaquismo y consumo de alcohol. Utilizando el análisis BKMR-DLM, las mezclas (W, Hg – RR:1,45), (V, Hg – RR:1,23), (V, W, Hg – RR:1,48), (V, Mo, Hg – RR:1,04) tuvieron una asociación significativa con el riesgo de cáncer de próstata. Además, la mezcla global de todos los metales también se asoció significativamente con el riesgo de cáncer de próstata, y el efecto acumulativo máximo se alcanzó a los 10 años de exposición. Como conclusión, encontramos asociaciones positivas entre los niveles séricos de combinaciones de cuatro metales pesados y el riesgo de cáncer de próstata. La mezcla global de todos los metales analizados también se asoció con un mayor riesgo de cáncer de próstata. Son necesarios otros estudios prospectivos con mayor tamaño de muestra para validar estos hallazgos.

COSTE-EFECTIVIDAD DE LAS ESTRATEGIAS DE CRIBADO PARA LA PREVENCIÓN PRIMARIA DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Spacirova Z, Epstein D, Barranco Rodríguez M, Espín J, García Mochón L, Masala G, Colorado-Yohar SM, Grioni S, Sacerdote C, Schiborn C, Kaptoge S, Bondonno N, Tjonneland A, Weiderpass E, Sánchez Pérez, MJ

RESUMEN: Las enfermedades cardiovasculares (ECV) se encuentran entre las principales causas de morbimortalidad en Europa. No obstante, con una mejor detección y gestión del riesgo se podrían prevenir anualmente decenas de miles de casos de ECV. Las intervenciones para las personas con alto riesgo de ECV implican una combinación de modificación del estilo de vida y tratamiento farmacológico que incluye hipolipemiantes, antihipertensivos y/o antiplaquetarios. En particular, se ha demostrado que las estatinas reducen el riesgo general de eventos cardiovasculares. Se ha propuesto que, con una mejor detección y gestión del riesgo de enfermedad, se podrían prevenir decenas de miles de casos anuales de ECV en la Unión Europea. Un programa de cribado permite a un profesional de atención primaria clasificar a cada individuo bajo su cuidado como de "alto riesgo" o "bajo riesgo" de tener futuros eventos cardiovasculares, con el objetivo de ofrecer una intervención adecuada. Una clasificación más precisa del riesgo reduciría la probabilidad de aparición de enfermedades en personas de alto riesgo y evitaría tratamientos innecesarios y potencialmente dañinos en personas de bajo riesgo. La detección del riesgo de ECV o el cribado en personas asintomáticas se puede realizar de forma oportunista o sistemática en la población general. Una evaluación de cualquier estrategia de detección requiere una comparación de costos, riesgos y beneficios. Varios estudios ya han comparado la rentabilidad de distintas estrategias. La mayoría de las evaluaciones económicas de las estrategias de cribado aplicaron un umbral de riesgo "uniforme" para iniciar terapias con estatinas, p.ej., tratar a todas las personas con riesgo de ECV a 10 años superior al 10%. Una preocupación particular es que tal estrategia no identifica necesariamente a aquellos individuos que se beneficiarían más de la terapia y no ofrece la prevención adecuada a las personas más jóvenes con un riesgo relativamente alto para su edad. El objetivo de este estudio fue evaluar el coste-efectividad de las diferentes estrategias de cribado para las ECV. Se construyó un modelo analítico de decisión para estimar los costes y beneficios de las estrategias de cribado desde la perspectiva del Sistema Nacional de Salud (SNS) diferenciadas por la edad de cribado (40, 50, 60 y 70 años), el sexo y el umbral para iniciar la terapia con estatinas ("uniforme" o "ajustado por edad"). Las tasas de transición se estimaron a partir de los resultados de un proyecto sobre ECV (EPIC-CVD) desarrollado en el marco del estudio EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition), un estudio de casos-controles anidados multicéntrico con 15 años de seguimiento. Los costes unitarios de atención primaria, hospitalizaciones y atención de ECV se tomaron del SNS. Se realizaron análisis de sensibilidad univariantes para considerar el efecto potencial de una reducción del 75% en la incidencia de ECV no fatal o fatal en comparación con el estudio EPIC-CVD, un mayor costo de seguimiento en atención primaria, la desutilidad asociada con tomar una estatina diaria, y peor adherencia en el mundo real que en los ensayos clínicos. El comparador fue "no hacer nada". El modelo basal mostró que la estrategia única más eficiente es evaluar tanto a hombres como a mujeres a los 40 años utilizando un umbral de riesgo uniforme para iniciar el tratamiento con estatinas. Los resultados son sensibles a las suposiciones sobre las tasas de incidencia de ECV -una reducción del 75% en la incidencia de la primera ECV aumentó la edad de detección óptima para las mujeres a 50 años-. Otros análisis de sensibilidad no cambiaron las conclusiones principales. El cribado único de ECV utilizando un umbral de riesgo uniforme parece rentable en comparación con el cribado no sistemático. Estos resultados deben evaluarse en estudios clínicos.

EFFECTOS DE UN PROGRAMA A DISTANCIA EN CUIDADORES DE PACIENTES CON ICTUS CRÓNICO Y DISFAGIA: ESTUDIO PILOTO

Mónica Zapata Soria, Irene Cabrera Martos, Joaquín Fernández Domínguez

RESUMEN: El objetivo de la investigación es evaluar los efectos de un programa desarrollado a distancia sobre la preparación y estado de salud en cuidadores de pacientes post-ictus con disfagia. Para ello se realizó un estudio piloto cuasi-experimental en el que se incluyeron cuidadores de pacientes que presentaban ictus crónico y disfagia. En la evaluación se incluyeron la preparación del cuidador evaluada con la escala de preparación del cuidador, la presencia de síntomas de ansiedad mediante el inventario de ansiedad de Beck y estrés percibido con la escala de estrés percibido. Además, se incluyó el Cuestionario de Evaluación de la Discapacidad de la Organización Mundial de la Salud (WHODAS 2.0 – 12 ítems). Se desarrolló una intervención individualizada de 4 semanas de duración mediante videoconferencia en la que se incluía información sobre la disfagia, posicionamiento del paciente en la alimentación, adaptación de texturas y consistencias. Se incluyeron 5 cuidadores. El 60% eran mujeres. Los resultados mostraron que tras la intervención mejoraron significativamente los valores de la escala de ansiedad de Beck ($13,40 \pm 12,84$ vs $7,40 \pm 10,76$, $p=0,047$). Aunque el resto de variables no mostraron diferencias significativas, los valores indican mejoras tras la intervención en la preparación del cuidador ($18,80 \pm 12,09$ vs $21,40 \pm 10,85$, $p=0,141$), estrés percibido ($28,20 \pm 3,96$ vs $25,00 \pm 6,21$, $p=0,144$) y estado global de salud ($14,00 \pm 17,19$ vs $8,60 \pm 14,72$, $p=0,180$). Concluimos que una intervención a distancia centrada en el cuidador de pacientes post-ictus con disfagia muestra mejora en los niveles de ansiedad. Estos resultados son positivos y sostienen el desarrollo de un ensayo clínico aleatorizado controlado.

PONENCIAS

1. Los glucocorticoides debilitan la función barrera intestinal en la colitis experimental de forma dependiente de la vía de administración
2. La modulación de la inflamación intestinal mediada por células mesenquimales estromales del intestino humano reduce el cáncer colorrectal asociado a colitis
3. Búsqueda de determinantes genéticos de la obesidad y DM2 en genes que intervienen en rutas de adipogénesis: FTO, MFN2 y PRDM16
4. Precisión del diagnóstico Óptico en Pólipos entre 5 y 15 mm y sus implicaciones sobre el seguimiento. Estudio prospectivo multicéntrico. (Estudio POPS)
5. Caracterización geno-fenotípica y estructural de una nueva mutación en el gen ALPL asociada a hipofosfatasa grave en el adulto

LOS GLUCOCORTICOIDES DEBILITAN LA FUNCIÓN BARRERA INTESTINAL EN LA COLITIS EXPERIMENTAL DE FORMA DEPENDIENTE DE LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Diego Ceacero-Heras (1), Mireia Tena-Garitaonaindia (1), María Arredondo-Amador (2), Samir Cordova (1), Ana Álvarez (1), Olga Martínez Augustin (1), Fermín Sánchez de Medina (2)

1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, ibs.GRANADA, CIBERehd 2. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, ibs.GRANADA, CIBERehd

RESUMEN: Los glucocorticoides son fármacos antiinflamatorios e inmunosupresores utilizados ampliamente en terapéutica, incluyendo las enfermedades inflamatorias del intestino. Sin embargo, además de estas acciones beneficiosas, los glucocorticoides pueden debilitar la función de barrera del intestino, a través de la activación del receptor NR3C1 epitelial. De hecho, los glucocorticoides tienen efectos antiproliferativos a este nivel, y los ratones con delección específica del receptor en el epitelio intestinal están protegidos frente a la colitis experimental. Por tanto, desde el punto de vista clínico puede ser beneficioso reducir las acciones epiteliales de los glucocorticoides. Con el fin de dilucidar la importancia de la vía de administración en la activación del receptor epitelial y la función de barrera intestinal se analizó el efecto en la colitis experimental de glucocorticoides administrados por vía oral o parenteral. Con este fin, se indujo colitis mediante la administración de sulfato de dextrano sódico (DSS) al 2,5% en el agua de bebida durante 7 días en ratones C57BL/6J. Los ratones recibieron prednisolona 200 µg/día por vía oral o prednisolona fosfato por vía parenteral, mientras que el grupo DSS control recibió el vehículo. El tratamiento con el glucocorticoide atenuó la gravedad de la respuesta inflamatoria, pero propició la translocación bacteriana al hígado en algunos animales. Además, la prednisolona administrada por vía oral aumento el índice de actividad de la enfermedad (DAI) en las etapas iniciales. Los animales tratados con el glucocorticoide mostraron sangre en heces tempranamente, especialmente por vía oral. En un segundo experimento se examinó el efecto de la budesonida 6 µg/día, en el que se observó nuevamente un sangrado temprano en heces por vía oral, así como una pérdida más acusada de peso y una potenciación de la translocación bacteriana. Por tanto, los glucocorticoides debilitan la barrera intestinal en la colitis experimental por DSS, particularmente cuando se administran por vía oral.

**LA MODULACIÓN DE LA INFLAMACIÓN INTESTINAL MEDIADA POR CÉLULAS MESE-
NQUIMALES ESTROMALES DEL INTESTINO HUMANO REDUCE EL CÁNCER COLO-
RECTAL ASOCIADO A COLITIS**

*Laura Hidalgo García (1,2), Antonio Jesús Ruiz Malagón (1,2), Francisco Huertas-Peña (2,3), Benito Mi-
rón Pozo (2,4), José Alberto Molina-Tijeras (1,2), María Jesús Rodríguez-Sojo (1,2), Patricia Díez-Echave
(1,2), Teresa Vezza (1,2), Rocío Morón (2,5), Patricia Becerra-Massare (6), Alba Rodríguez-Nogales (1,2),
Julio Gálvez (1, 2,7), María Elena Rodríguez-Cabezas (1,2), Per Anderson (2,8).*

1. Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, España. 3. Servicio de Cirugía, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España. 4. Servicio de Cirugía General, Hospital Clínico San Cecilio, Granada, España. 5. Servicio Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada, España. 6. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada, España. 7. Centro de Investigación Biomédica en Red – Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER-EHD), España. 8. Servicio de Análisis Clínicos e Inmunología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

RESUMEN: La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una enfermedad autoinmune crónica cuya incidencia y prevalencia ha ido en aumento en los últimos años. En la actualidad afecta a millones de personas en todo el mundo y se conoce que en su último estadio aumentan la probabilidad de derivar en cáncer colorrectal asociado a colitis ulcerosa (CAC). La inyección local y sistémica de células mesenquimales estromales (MSCs) de diferente origen ha demostrado una buena eficacia en la reducción de la inflamación intestinal, tanto en modelos experimentales in vivo, como en ensayos clínicos en humanos. Sin embargo, poco se conoce del efecto que las células mesenquimales estromales intestinales (iMSCs) tienen sobre el cáncer colorrectal. Esto junto al hecho de que las MSCs podrían adoptar un estado proinflamatorio y/o protumoral en determinadas condiciones (presencia de distintas citoquinas, agonistas de TLRs o según el modelo experimental) justifica aún más su estudio en un modelo experimental de CAC. Para ello, se usaron ratones hembra C57BL/6J (n=12/grupo) a los que el CAC se le indujo mediante la administración intraperitoneal de azoximetano (AOM; 10 mg/kg) seguida de tres ciclos de sulfato de dextrano sódico (DSS) en agua de bebida al 2% (p/v), con un periodo de descanso entre ciclos de 14 días. El índice de actividad de la enfermedad (DAI) se monitorizó periódicamente en cada uno de los ciclos. Además, la semana previa a la finalización del ensayo se realizó una colonoscopia para evaluar la carga y el crecimiento tumoral. La administración de iMSCs aisladas de mucosa intestinal humana no comprometida y expandidas in vitro se realizó en los picos de DAI del segundo y tercer ciclo de DSS. Para ello, se inyectaron 0.5×10^6 células/ratón (n=12) vía intraperitoneal. El efecto de la administración de iMSCs se evaluó tanto a nivel macroscópico (número y tamaño de tumores, longitud y peso del colon, peso del bazo, etc.) como a nivel molecular mediante la valoración de diferentes marcadores implicados en el proceso evaluados a nivel de mensajero (RT-qPCR) y proteico (western blot). Además, se evaluó la presencia de diferentes poblaciones inmunes en el intestino. La administración de iMSCs redujo de forma significativa tanto la pérdida de peso como el índice de actividad de la enfermedad y el número y tamaño de tumores intestinales. Además, las iMSCs redujeron la expresión colónica de varios mediadores inflamatorios que promueven el desarrollo del CAC, entre los que se encuentran IL-6, TNF- α , IL-17 / IL-23 y COX-2. Por otra parte, el nivel de β -catenina (promotora de tumores) también se redujo en los ratones tratados con iMSCs respecto al grupo control de CAC. Asimismo, el análisis por citometría de flujo de las células inmunitarias innatas intestinales reveló una reducción de neutrófilos, eosinófilos y células dendríticas en ratones tratados con iMSCs, en comparación con el grupo control de CAC. Por último, la administración de iMSCs restauró en parte una diferenciación normal de macrófagos en el intestino y redujo la proporción de macrófagos M1. En resumen, los datos obtenidos muestran que las iMSCs protegen frente al desarrollo del CAC, gracias, en parte, a sus potentes efectos inmunomoduladores, lo que a su vez respalda el uso de las MSCs para el tratamiento de la EII.

BÚSQUEDA DE DETERMINANTES GENÉTICOS DE LA OBESIDAD Y DM2 EN GENES QUE INTERVIENEN EN RUTAS DE ADIPOGÉNESIS: FTO, MFN2 Y PRDM16

López-Llaría Marta, Ruiz-Palmero Isabel, Redruello-Romero Anaís, Lopez-Perez David, León Josefa, Fernández-Castillo Rafael, Esteban de la Rosa Rafael, Morell María, Lima-Cabello Elena, Jimenez-Lopez Jose C., Carmona F. David, Carazo-Gallego Ángel, Morales-Santana Sonia

RESUMEN: La obesidad es una enfermedad compleja, provocada por la combinación de factores ambientales, genéticos y humorales. Se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, y su prevalencia se ha triplicado desde 1975. Sin embargo, no todos los individuos desarrollan obesidad aunque lleven estilos de vida similares, lo que sugiere una que las diferencias genéticas aumentan la predisposición de ciertos individuos a padecer esta patología. Además, la presencia de obesidad también aumenta el riesgo de otras patologías como la Diabetes Mellitus 2 (DM2). La DM2 está aumentando su incidencia en la población y afecta principalmente a órganos metabólicos como el hígado, músculo o tejido adiposo, generando graves problemas de salud. El objetivo de este trabajo es estudiar la asociación de genes implicados en las rutas de diferenciación de adipocitos, y analizar la predisposición a desarrollar obesidad y progresar a DM2. Se llevaron a cabo estudios transversales retrospectivos. En el primer estudio, analizamos 198 individuos sanos no obesos y 166 individuos con obesidad. En el segundo se compararon 198 sujetos sanos con 364 pacientes con DM2. Consideramos 3 genes diferentes (PRDM16, MFN2 y FTO), seleccionados por influir en la ruta de diferenciación de los adipocitos. Hemos elegido un SNP de cada uno de ellos, y el objetivo es buscar una asociación entre los genes seleccionados y el riesgo de desarrollar obesidad y progresar a DM2. También, se analizó la asociación con parámetros relacionados con ambas patologías. Los resultados revelan que el SNP rs1042842 del gen MFN2 muestra asociación con la DM2 mediante un modelo recesivo con OR=2,095 (95% CI 1,060-4,140), $p=0,033$, ajustado por sexo, edad y presencia de obesidad, y se muestra una influencia del polimorfismo en los niveles de HbA1c $\beta=0,152$ (95% CI 0,009-0,762) $p=0,045$ en la población masculina, ajustado por la presencia de DM2. Por otra parte, el polimorfismo rs8050136 de FTO influencia el IMC, tanto en la población total al comparar individuos sanos con pacientes con DM2 $\beta=0,083$ (95% CI 0,056-1,469) $p=0,034$, como en la femenina $\beta=0,121$ (95% CI 0,050-2,226) $p=0,040$, ajustado por presencia de DM2. En PRDM16 no hemos encontrado asociaciones relevantes. Existe una asociación entre el polimorfismo rs1042842 del gen MFN2 con la presencia de DM2, e influencia los niveles de HbA1c en varones. Por otra parte, hemos encontrado una asociación del polimorfismo rs8050136 del gen FTO con el IMC, que apoyaría su papel como factor genético que contribuye a la obesidad. Es necesario ampliar el tamaño muestral del estudio para confirmar nuestros datos. Además, habría que analizar un mayor número de polimorfismos en los genes FTO y PRDM16 para comprobar su asociación con la obesidad y DM2, y poder confirmar la implicación de estos genes clave en rutas de diferenciación de adipocitos.

Este estudio ha sido parcialmente financiado a través del Proyecto de la Consejería de Salud y familias de la Junta de Andalucía, proyecto ref.: PI-0450-2019 y por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad a través del Proyecto ref.: RYC-2014-16536 (programa de investigación Ramón y Cajal) a JCJ-L

PRECISIÓN DEL DIAGNÓSTICO ÓPTICO EN PÓLIPOS ENTRE 5 Y 15 MM Y SUS IMPLICACIONES SOBRE EL SEGUIMIENTO. ESTUDIO PROSPECTIVO MULTICÉNTRICO. (ESTUDIO POPS)

Eduardo Redondo Cerezo

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. Departamento de Medicina. Universidad de Granada

RESUMEN: La histología de los pólipos y su diámetro de a partir de 1 cm determina si un paciente necesita una revisión en tres años, o quizá ninguna más. Nuestro objetivo fue determinar la capacidad del endoscopista en estimar el tamaño y precisar el diagnóstico histológico mediante técnicas de diagnóstico óptico con NBI. El diagnóstico mediante NBI y la estimación del endoscopista en cuanto al tamaño se compararon con el estándar de referencia, la medición del pólipo inmediatamente después de ser resecado por un auxiliar en lo que respecta al tamaño, y el diagnóstico del informe de anatomía patológica en lo que se refiere al diagnóstico óptico. Se incluyeron pacientes consecutivamente en un estudio multicéntrico, prospectivo, con datos de la vida real, de pacientes a los que se quitaron pólipos de entre 5 y 15 mm según estimación del endoscopista, para abarcar el umbral de 1 cm, en cinco hospitales. Se comparó la estimación del tamaño del endoscopista y el patólogo con la medición del pólipo en fresco inmediatamente tras la resección, determinando sensibilidad a nivel de paciente, mediante dos características: La presencia o no de adenoma y el intervalo de seguimiento recomendado. Los intervalos de seguimiento fueron establecidos por el endoscopista, basándose en el diagnóstico óptico, y por otro gastroenterólogo, que independientemente estableció el intervalo basándose exclusivamente en el informe anatomopatológico. La precisión diagnóstica se estudió a nivel de pólipo. Se resecaron 532 pólipos en 451 pacientes. La estimación del tamaño resultó más precisa para el endoscopista. La sensibilidad del endoscopista para la presencia de adenoma o carcinoma fue del 98.7%. Al considerar la presencia de displasia de alto grado o cáncer, la sensibilidad fue del 82.6% para el diagnóstico óptico endoscópico. La sensibilidad para la adecuada indicación de un intervalo de seguimiento correcto a 3 años fue del 91.5%, especificidad del 82.3%, PPV 93.2%, NPV: 78.5% en el caso del endoscopista. Un 6.5% de los pacientes sufrirían un retraso de su colonoscopia mientras que un 4.8% la recibirían anticipadamente si se siguen las indicaciones del endoscopista. La conclusión es que el diagnóstico óptico mediante NBI es adecuado y cumple criterios para su aplicación en la práctica clínica en el diagnóstico y determinación de intervalos de seguimiento en pólipos de entre 5 y 15 mm.

CARACTERIZACIÓN GENO-FENOTÍPICA Y ESTRUCTURAL DE UNA NUEVA MUTACIÓN EN EL GEN ALPL ASOCIADA A HIPOFOSFATASIA GRAVE EN EL ADULTO

Cristina García-Fontana (1,2,3), Francisco Andújar-Vera (2), Iván Iglesias-Baena (4), Victoria Contreras-Bolívar (1,2), Juan Miguel Villa-Suárez, (2,5), Sheila González-Salvatierra (1,2,7), Gonzalo Martínez-Navajas (8,9), Pedro J Real (8,9), Manuel Muñoz Torres (1,2,3,7), Beatriz García-Fontana (1,2,3).

1. Unidad de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (Ibs.GRANADA). Granada, España. 3. CIBERFES. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, España. 4. Genactive Clinic & Reserach. Granada, España. 5. Unidad de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada, España. 6. Dpto. De Enfermería. Universidad de Granada. 7. Dpto. de Medicina. Universidad de Granada. Granada, España. 8. Área de Regulación Génica de Células Madre y Desarrollo- GENYO. Centro de Genómica e Investigación Oncológica. Pfizer-Universidad de Granada- Junta de Andalucía. Granada, España. 9. Dpto. Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad de Granada. Granada, España

RESUMEN: La hipofosfatasa (HPP) es una enfermedad genética rara, grave y potencialmente mortal causada por una o varias mutaciones en el gen codificante para la fosfatasa alcalina no específica del tejido (ALPL). En este trabajo realizamos una caracterización geno-fenotípica tanto a nivel funcional como a nivel estructural de la nueva variante genética His379Asn del gen ALPL asociada a HPP del adulto. Establecer la relación de los datos estructurales y de actividad enzimática de la variante con las manifestaciones clínicas del paciente afectado. Para ello, se estudió la historia clínica del paciente afectado a través de la recopilación de distintas determinaciones analíticas en suero que incluían la actividad de la Fosfatasa Alcalina (FA) total, la concentración de piridoxal-5'-fosfato (PLP) así como otros marcadores bioquímicos. Se realizaron pruebas de caracterización fenotípica a través de ensayos de mutagénesis dirigida para construir la variante descrita que fué expresada posteriormente en cultivos celulares de células embriónicas HEK293T. Mediante estudios bioinformáticos se representó los modelos tridimensionales de las proteínas wild-type (WT) y mutante mediante las herramientas SWISS MODEL y UCSF Chimera. El estudio de las manifestaciones clínicas del paciente reveló la presencia de diversas dolencias asociadas a la variante genética que incluían desde dolor muscular, pérdida de fuerza muscular, trastornos digestivos y articulares, hasta parestesias en cara y miembros superiores. Se comprobó que la mutación en el gen ALPL identificada no estaba descrita previamente ni anotada en la base de datos <http://alplmutationdatabase.hypophosphatasie.com>, por lo que no había evidencia científica que explicara la sintomatología asociada. Los ensayos de mutagénesis dirigida y el análisis de la actividad FA revelaron una drástica reducción de la actividad enzimática en la nueva variante genotípica identificada. Los ensayos de modelaje 3D revelaron la pérdida de uno de los dos sitios de unión a Zinc presentes en la proteína WT. Dado que los dos átomos de Zinc son imprescindibles para la actividad catalítica de la enzima, deducimos que la pérdida de uno de los sitios de unión a Zinc es la responsable de la acusada reducción de actividad enzimática de la FA. En conclusión, en nuestro estudio se anotó una nueva mutación del gen ALPL caracterizada por la pérdida de uno de los dos sitios de unión a Zn de la FA que origina una drástica reducción de la actividad enzimática asociada a una sintomatología moderada a grave de HPP en el adulto.

PONENCIAS

1. La disfunción vascular, el estrés oxidativo y la inflamación inducida por el ruido mejoran mediante la inducción farmacológica de la hemoxigenasa-1
2. Cortistatina: un factor protector de los sistemas cardiovasculares y respiratorios
3. Participación del sistema inmunológico en el efecto antihipertensivo de la fibra dietética en ratas espontáneamente hipertensas
4. Mecanismos arritmogénicos en enfermedades cardíacas hereditarias
5. El N-óxido de trimetilamina promueve autoinmunidad y la pérdida de la función vascular en ratones con lupus inducidos por la activación del receptor Toll-like 7
6. Apuntando a la microbiota intestinal con fibras dietéticas: un enfoque novedoso para prevenir el desarrollo de complicaciones cardiovasculares relacionadas con el lupus eritematoso sistémico en un estudio preclínico

LA DISFUNCIÓN VASCULAR, EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA INFLAMACIÓN INDUCIDA POR EL RUIDO MEJORAN MEDIANTE LA INDUCCIÓN FARMACOLÓGICA DE LA HEMOXIGENASA-1

Maria Teresa Bayo-Jimenez, Katie Frenis, Swenja Kröller-Schön, Marin Kuntic, Paul Stamm, Miroslava Kvandova, Matthias Oelze, Sebastian Steven, Thomas Münzel, Andreas Daiber

RESUMEN: La disfunción endotelial, el estrés oxidativo vascular y la inflamación son consecuencias de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales y desencadenantes de la enfermedad cardiovascular. Sin embargo, recientemente se han incluido los factores de riesgo ambientales, como la exposición al ruido del tráfico, que pueden facilitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Nosotros hemos investigado la influencia de la exposición al ruido de los aviones en los mecanismos moleculares que identifican el estrés oxidativo y la inflamación como principales mediadores de la disfunción vascular (Münzel et al. Eur. Heart J. 2017). Previamente, expusimos a ratones C57BL/6J al ruido de aviones con un nivel de sonido máximo de 85 y un nivel de sonido medio de 72 dB(A) aplicado durante 1, 2 y 4 días, lo que provocó un aumento de la presión arterial sistólica, hormonas del estrés, disfunción endotelial, estrés oxidativo e inflamación. El ruido de los aviones aumentó la expresión de eNOS pero redujo los niveles vasculares de NO debido al desacoplamiento de eNOS. Además, aumentó los niveles de nitrotirosina, interleucina-6, subunidad Nox2 de la NADPH oxidasa y endotelina-1. Más recientemente, hemos demostrado que el ruido de los aviones también induce estrés oxidativo cerebral y un fenotipo neuroinflamatorio que se encuentra antes de los efectos cardiovasculares adversos observados, todo lo cual se normalizó mediante la eliminación genética de la isoforma Nox2 de la NADPH oxidasa (Eur Heart J 2018). Actualmente hemos estado investigando el papel de la hemoxygenasa-1 (HO-1) como respuesta antioxidante. Los ratones C57BL/6J se trataron con el activador HO-1 hemin (25 mg/kg ip) y el inductor de Nrf2 dimetilfumarato (DMF, 20 mg/kg d.o). Nuestros datos preliminares muestran un efecto protector de ambos tratamientos sobre la exposición al ruido de los aviones (4 días) inducida por el aumento de la presión arterial sistólica y la disfunción vascular. También hubo una tendencia a la normalización del estrés oxidativo provocado por el ruido en ambos tratamientos. Dentro de los estudios en curso, hemos abordado el impacto de la activación de Nrf2/ inducción de HO-1 en ratones expuestos al ruido sobre la expresión de genes y proteínas involucradas en las vías del estrés oxidativo y la inflamación. Es por esta razón que el presente estudio tiene como objetivo identificar nuevas estrategias para la mitigación contra los efectos adversos para la salud de la exposición al ruido ambiental de la población en general. Dado que la inducción de HO-1 y activación de Nrf2 puede lograrse mediante componentes dietéticos naturales, representando medidas preventivas para los efectos negativos que provoca el ruido en el sistema cardiovascular.

Agradecimientos: Nuestros estudios experimentales sobre los efectos del ruido en ratones fueron apoyados por becas de investigación en biología vascular de la Fundación Else-Kröner-Fresenius para "Noise and arterial hypertension" (2017_A106) y la Fundación Boehringer Ingelheim para el grupo de investigación colaborativo "Novel and neglected cardiovascular risk factors: molecular mechanisms and therapeutic implications".

CORTISTATINA: UN FACTOR PROTECTOR DE LOS SISTEMAS CARDIOVASCULARES Y RESPIRATORIOS

Mario Delgado

RESUMEN: Cortistatina es un neuropéptido cíclico perteneciente a la familia de la somatostatina que fue descubierto en la corteza cerebral por su capacidad reguladora de la actividad locomotora y el sueño. Evidencias posteriores mostraron que cortistatina tenía una distribución en varias células de nuestro organismo, más allá de su expresión en el cerebro, y ejercía efectos pleiotrópicos en una diversidad de órganos y tejidos. Nuestro grupo de investigación ha descrito la capacidad de cortistatina de regular funciones claves relacionadas con los sistemas inmunológico, cardiovascular y respiratorio, actuando generalmente como un agente endógeno protector. En esta conferencia, revisaremos de forma breve las evidencias experimentales que demuestran cómo la deficiencia en este neuropéptido predispone a desarrollar formas severas de enfermedades de impacto e importancia sanitaria mundial como son la estenosis vascular, la aterosclerosis o la fibrosis pulmonar, y cómo tratamientos basados en el uso de cortistatina revierten la progresión clínica de estos desórdenes en modelos experimentales preclínicos. Por último, abordaremos las perspectivas de futuro en este tipo de terapia avanzada en combinación con terapia génica y celular.

PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO EN EL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE LA FIBRA DIETÉTICA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS

Cristina González-Correa, Javier Moleón, Sofía Miñano, Néstor de la Visitación, Iñaki Robles-Vera, Yasmina Moreno-Fernández, Rosario Jiménez, Juan Duarte, and Miguel Romero.

RESUMEN: La suplementación dietética con determinados tipos de fibra ha demostrado estar asociada a una menor incidencia de hipertensión. Sin embargo, los mecanismos por los que la fibra dietética disminuye la presión arterial no se conocen con exactitud. El objetivo de este estudio fue investigar si la suplementación dietética con dos tipos de dietas ricas en fibra, una fibra soluble de fructanos del tipo inulina (ITF, OraftiP95®) y una fibra insoluble almidón resistente (RS, SF11-025®), ejerce un efecto protector cardiovascular en el desarrollo de hipertensión en un modelo experimental de hipertensión genética, centrándonos en la participación del sistema nervioso simpático, el sistema inmunológico y la microbiota intestinal. Como modelo experimental de hipertensión genética, se han utilizado ratas macho espontáneamente hipertensas (SHR), y su respectivo control normotenso, ratas Wistar Kyoto (WKY), de 6 semanas de edad, que serán divididas aleatoriamente en 4 grupos experimentales (n=8): 1) grupo control (WKY), 2) grupo hipertenso (SHR), 3) grupo hipertenso tratado con OraftiP95® (250 mg/rata/día en el agua de bebida) (SHR+ITF), 4) grupo hipertenso tratado con dieta SF11-025 (SHR+RS). El grupo control tomará una dieta estándar con 47,6% de fibra. El tratamiento se mantuvo durante 12 semanas. Durante el tratamiento, se siguió la evolución de los valores de presión arterial cada 2 semanas, mediante pletismografía en la cola. Al finalizar el tratamiento, se determinó los valores de presión arterial mediante registro directo, se realizó estudios de función endotelial, se midió el estado oxidativo e inflamatorio vascular, la integridad de la pared intestinal, los niveles plasmáticos de LPS, los cambios de las poblaciones de linfocitos en nódulos linfáticos mesentéricos y la infiltración vascular, y la actividad del sistema nervioso simpático. Se observa que el tratamiento crónico con la dieta SF11-025 fue capaz de prevenir el incremento de presión arterial y el desarrollo de disfunción endotelial en ratas SHR, como consecuencia de una reducción en la producción vascular de especies reactivas de oxígeno vía NADPH oxidasa y una menor infiltración vascular de citoquinas proinflamatorias. Estos efectos protectores están asociados a una menor actividad simpática, una mejora de la integridad intestinal, una reducción en los niveles plasmáticos de lipopolisacárido (LPS), y una restauración del balance de las poblaciones de linfocitos Th17/Treg en nódulos mesentéricos y aorta. Por el contrario, la suplementación dietética con la fibra OraftiP95® no demostró ejercer ningún efecto protector cardiovascular en el desarrollo de hipertensión y disfunción endotelial observado en ratas SHR. En conclusión, nuestro estudio demuestra que la suplementación dietética con una fibra insoluble RS ejerce un efecto protector cardiovascular, como consecuencia de una reducción del estado oxidativo e inflamatorio vascular, una mejora de la integridad de la pared intestinal, una disminución de la endotoxemia, una menor actividad simpática y una mejora de la respuesta inmunológica, incrementando la acumulación de linfocitos Treg en la vasculatura y reduciendo los linfocitos Th17. Sin embargo, una dieta rica en fibra soluble ITF carece de efectos cardiovasculares beneficiosos para prevenir el desarrollo de hipertensión y disfunción endotelial.

Este trabajo ha sido financiado con fondos del Programa Operativo FEDER 2018, Junta de Andalucía-Consejería de Economía y Conocimiento (B-CTS-046-UGR18), y por el Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III (CIBER-CV), España.

Charla

SESIÓN 13.

Enfermedades respiratorias y cardiovasculares

Día 3

11 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

MECANISMOS ARRITMOGÉNICOS EN ENFERMEDADES CARDÍACAS HEREDITARIAS

Juan Jiménez Jáimez

RESUMEN: Las enfermedades cardíacas hereditarias causan muerte súbita por arritmias ventriculares. Entre ellas destacan la displasia arritmogénica y las canalopatías. Nuestro grupo de investigación estudia los mecanismos moleculares causales de los diversos fenotipos, conduciendo a un mejor conocimiento de la fisiopatología y la investigación de nuevas dianas terapéuticas

EL N-ÓXIDO DE TRIMETILAMINA PROMUEVE AUTOINMUNIDAD Y LA PÉRDIDA DE LA FUNCIÓN VASCULAR EN RATONES CON LUPUS INDUCIDOS POR LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR TOLL-LIKE 7

Sofía Miñano, Cristina González-Correa, Javier Moleón, Néstor de la Visitación, Iñaki Robles-Vera, Manuel Gómez-Guzmán, Rosario Jiménez, Miguel Romero y Juan Duarte

RESUMEN: Los niveles plasmáticos de N-óxido de trimetilamina (TMAO) están elevados en pacientes con lupus. Analizamos la implicación de TMAO en la autoinmunidad y disfunción vascular del modelo murino de lupus eritematoso sistémico (LES) inducido por la activación del receptor Toll-like (TLR)7 con imiquimod (IMQ). Se dividieron aleatoriamente ratones BALB/c hembra en 4 grupos: ratones control no tratados, ratones control tratados con el inhibidor de trimetilamina liasa 3,3-dimetil-1-butanol (DMB), ratones IMQ y ratones IMQ tratados con DMB. Los grupos tratados con DMB se administraron en el agua de bebida durante 8 semanas. El tratamiento con DMB redujo los niveles plasmáticos de TMAO en ratones con lupus inducido por IMQ. DMB previene el desarrollo de hipertensión, reduce la progresión de la enfermedad (niveles plasmáticos de autoanticuerpos anti-dsDNA, esplenomegalia y proteinuria), polarización de linfocitos T hacia Th17/Th1 en órganos linfáticos secundarios y mejora la función endotelial en ratones con lupus inducido por IMQ. Los efectos deletéreos vasculares causados por TMAO parecen estar asociados con un aumento del estrés oxidativo vascular generado por el incremento de la actividad de NADPH oxidasa, derivado en parte de la infiltración vascular de linfocitos Th17/Th1 y, reduce la vía antioxidante mediada por nrf2. En conclusión, nuestros hallazgos identifican al TMAO, derivado del metabolito bacteriano TMA, como un regulador del sistema inmunológico involucrado en el desarrollo de autoinmunidad y disfunción endotelial en ratones LES.

APUNTANDO A LA MICROBIOTA INTESTINAL CON FIBRAS DIETÉTICAS: UN ENFOQUE NOVEDOSO PARA PREVENIR EL DESARROLLO DE COMPLICACIONES CARDIOVASCULARES RELACIONADAS CON EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN UN ESTUDIO PRECLÍNICO

Javier Moleón (1), Cristina González-Correa (1), Iñaki Robles-Vera (1), Néstor de la Visitación (1), Sofía Miñano (1), Natividad Martín-Morales (2), Francisco O'Valle (2,3), Rosario Jiménez (1,3,4), Miguel Romero (1,3)†, Juan Duarte (1,3,4)

1. Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia y Centro de Investigación en Biomedicina(CIBM), Universidad de Granada, 18071- Granada, España. 2. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España. 3. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, ibs.GRANADA, Granada, España. 4.Ciber de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), España.

RESUMEN: La microbiota intestinal puede desencadenar síntomas y facilitar la progresión de algunas enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado que esta microbiota controla el desarrollo de complicaciones renales y vasculares asociadas con el lupus eritematoso sistémico (LES). El objetivo del presente estudio fue examinar si el consumo de fibras dietéticas solubles e insolubles con actividad prebiótica conocida mejora la actividad de la enfermedad y las complicaciones cardiovasculares en un modelo murino de LES. Se utilizaron ratones hembra NZW / LacJ (control) y NZBWF1 (SLE) de veinticinco semanas de edad, que consumieron una dieta estándar o dieta SF11-025 (72,7% de fibra insoluble) (RS) o una dieta estándar más ORAFTI P95 (fibra soluble, fructanos tipo inulina) (ITF) en el agua de bebida a una dosis final de 250 mg / ratón / día durante 8 semanas. La suplementación con ITF en ratones SLE aumentó la uniformidad y normalizó la proporción de Actinobacteria. Sin embargo, la dieta RS indujo cambios más profundos en la proporción de filos, restaurando Actinobacteria y aumentando la lectura de Verrucomicrobia. Además, las bacterias productoras de acetato y butirato aumentaron con la dieta RS, mientras que la ITF aumentó la proporción de bacterias productoras de butirato. El tratamiento con ambos tipos de fibras evitó el aumento de la presión arterial, el daño renal y mejoró la relajación vascular dependiente del endotelio inducida por acetilcolina y la actividad vascular NADPH oxidasa en ratones con lupus. Además, la dieta RS redujo la hipertrofia cardíaca y renal, mejoró la integridad intestinal y los niveles plasmáticos de lipopolisacáridos. El tratamiento con fibras redujo la proporción de Th17 en los ganglios linfáticos mesentéricos, la sangre y la aorta. Sin embargo, ninguna dieta mejoró la actividad de la enfermedad de lupus, medida por la concentración plasmática de autoanticuerpos anti-ds-ADN y el grado de esplenomegalia en ratones SLE. El fenotipo hipertensivo se transfirió después de la inoculación de la microbiota del grupo SLE a ratones normotensos libres de gérmenes (GF). Por el contrario, la inoculación de microbiota intestinal de ratones RS e ITF no indujo hipertensión en ratones GF, lo que demuestra el papel clave del mecanismo prebiótico de ambas fibras como antihipertensivo. En conclusión, nuestros hallazgos identifican la manipulación de la microbiota intestinal con fibras prebióticas como un enfoque alternativo para la prevención del daño vascular asociado al LES.

PONENCIAS

1. La comunicación y la divulgación de la ciencia, claves en la pandemia por COVID-19
2. La importancia de divulgar la ciencia: formar a los investigadores para informar a la sociedad
3. Metodologías para la caracterización y captura de cromosomas: secuenciación de anomalías cromosómicas tras captura por citometría de flujo, microdissección láser y esferas magnéticas
4. Plataforma de cultivo celulares del ibs.GRANADA: soporte científico-técnico al servicio del investigador
5. Somos Granada-Somos Salud
6. Citometría de Flujo de Alta Capacidad
7. Proquinorte
8. Financiación de proyectos. Fondos Next Generation
9. La bioimagen al servicio de la investigación-Descubrimiento y Desarrollo de Fármacos
10. Servicios del Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía para la investigación biomédica

LA COMUNICACIÓN Y LA DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA, CLAVES EN LA PANDEMIA POR COVID-19

Cobano Lora, Charo; León Vergara, M. Reyes

RESUMEN: Desde que la Organización Mundial de la Salud (OMS) declarase la situación de pandemia por el coronavirus SARS-CoV2 el 11 de marzo de 2020, medios de comunicación y plataformas digitales de todo el mundo se han centrado en hablar de este nuevo virus letal hasta entonces desconocido. La información sobre ciencia y salud coparon informativos de televisión, programas de radio, páginas de periódicos y foros en redes sociales. Toda la comunidad científica se afanaba por analizar y comprender el comportamiento de este nuevo virus que a fecha de noviembre de 2021 había causado más de cinco millones de muertes en todo el mundo. Desde entonces, el foco informativo se ha puesto directamente en la comunidad investigadora, voces expertas que podían ofrecer respuestas a todas las preguntas que se formulaba la ciudadanía día tras día. En este contexto, la comunidad investigadora del Sistema Sanitario Público de Andalucía centró sus esfuerzos en estudiar el virus y en encontrar alternativas terapéuticas para quienes enfermaban: proyectos de investigación, ensayos clínicos, estudios observacionales... La vertiginosa e imparable labor de estos profesionales era directamente proporcional al interés de la sociedad por conocer cómo iba evolucionando la pandemia y qué avances ofrecía la ciencia. Ante esto, desde la Unidad de Comunicación de la Fundación Progreso y Salud se hizo un especial esfuerzo por comunicar y divulgar el trabajo de la comunidad investigadora lo que ha contribuido notablemente a la alfabetización científica de la población y a generar una mayor confianza en los profesionales del sistema público de salud de Andalucía. Entre los meses de marzo a diciembre de 2020 el perfil en Twitter de la Fundación Progreso y Salud sirvió de altavoz para informar sobre el trabajo de la comunidad científica. Los mensajes emitidos registraron 913.400 impresiones y se sumaron casi 500 nuevos seguidores. También sirvieron las notas de prensa emitidas directamente desde la organización, en torno a cuarenta. A través de estos canales se ha dado a conocer financiación pública extraordinaria para proyectos que estudian la enfermedad de COVID-19; los estudios que se han puesto en marcha en el seno de la sanidad pública; sus primeros resultados, iniciativas de colaboración y apoyo a los profesionales sanitarios; el establecimiento de convenios de colaboración para incorporar herramientas para el control de la pandemia, etc. Con todo ello, la producción informativa de la Fundación Progreso y Salud entre marzo y diciembre de 2020 se multiplicó por cuatro en relación a años anteriores, generando unos 1.200 impactos en soportes digitales, prensa, radio y televisión. Buen ejemplo de esta repercusión son las noticias sobre el desarrollo del respirador 'Andalucía Respira'; el ensayo clínico para probar la eficacia del plasma hiperinmune de pacientes que han superado la enfermedad; o también el ensayo clínico para demostrar que el calcifediol reduce el riesgo de ingreso en UCI de pacientes con COVID-19. Además de la producción propia de piezas informativas, la Fundación Progreso y Salud colaboró activamente en la difusión de la I+D+i a nivel regional, prestando soporte técnico y metodológico en la redacción de las notas de prensa así como en la revisión de las mismas al resto de centros y entidades vinculadas al Sistema Sanitario Público de Andalucía. Con todo ello, la presencia de la I+D+i andaluza en los medios de comunicación y las redes sociales experimentó un fuerte incremento en este periodo de tiempo poniendo de manifiesto el interés por la población ante informaciones científicas rigurosas y, al mismo tiempo, la calidad del trabajo realizado en el seno del sistema público de salud de Andalucía.

LA IMPORTANCIA DE DIVULGAR LA CIENCIA: FORMAR A LOS INVESTIGADORES PARA INFORMAR A LA SOCIEDAD*León Vergara, M. Reyes; Cobano Lora, Charo*

RESUMEN: El investigador en salud es un actor esencial en la comunicación para la salud, pues es el experto en un tema concreto. Si bien hace unos años no existía una orientación clara del profesional hacia la divulgación de su trabajo más allá de los círculos científicos, en la actualidad existe un creciente interés por parte de la comunidad investigadora en comunicar. Bien por requerimientos de difusión impuestos por las instituciones financiadoras, bien por el interés por contar resultados, bien por obtener reputación científica y/o social, la difusión de la ciencia forma parte ya de su actividad. Por su parte, la sociedad cada vez demanda un mayor número de informaciones relacionadas con los avances científicos en materia de salud. La ciudadanía quiere saber cómo se utiliza el dinero dedicado a la investigación, pero también tiene interés por incrementar sus conocimientos sobre los problemas que le aquejan y cómo los especialistas buscan solución a los mismos. Y en medio de la comunidad científica y la sociedad están los medios de comunicación, como canal, y los periodistas como intermediarios y creadores del mensaje que parte de la comunidad investigadora y va a la sociedad. Su función “traductora” del mensaje científico es esencial, convirtiéndolo en contenido comprensible para la ciudadanía. La comunicación de los avances científicos en salud contribuye también a la alfabetización científica de la sociedad, que demanda información sobre el avance de la ciencia, más aún si esos avances inciden en su calidad de vida. Los objetivos fundamentales de la alfabetización científica son contribuir a la comprensión básica de la ciencia, de sus procesos y de sus aplicaciones en la sociedad y a la toma de decisiones por parte de los ciudadanos. Por tanto, para que el resultado de las investigaciones científicas llegue a la ciudadanía (receptor) y contribuya a su alfabetización científica, es importante que el emisor (el investigador) configure un mensaje que se pueda entender. Para ello, debe conocer algunas herramientas de comunicación que le ayuden. Con esta finalidad, en 2019 la Fundación Progreso y Salud decidió poner a disposición de la comunidad investigadora una actividad formativa en formato MOOC denominada ‘Convertir la comunicación científica en cultura ciudadana’ que se estructuró en 3 bloques orientados a exponer qué hechos son susceptibles de ser divulgados, cómo se dan a conocer a la ciudadanía y cuáles son las herramientas con las que se puede comunicar la ciencia. Así, se abarcaron temas relacionados con cómo hacer una nota de prensa; qué contenidos se publican en redes sociales; cómo grabar videos para dar a conocer los hallazgos científicos; qué hacer en una rueda de prensa y cómo dar declaraciones a los medios de comunicación; o cómo elaborar un plan de comunicación de su actividad. Además, la acción formativa contó con material adicional como ejemplos y casos de éxito así como con la participación de un periodista y una investigadora, quienes aportaron su experiencia y su punto de vista sobre la importancia de comunicar la ciencia. La metodología y el plan didáctico utilizados permitió a los profesionales adquirir habilidades para exponer los avances y los resultados generados de la investigación con el fin de que lleguen a la ciudadanía de una forma eficaz, clara y concisa. La formación, de 17 horas lectivas, fue valorada con una puntuación media de 8,67 sobre una escala de 10 por los 199 investigadores que la finalizaron (un 65% mujeres y un 35% hombres), lo que indica, por un lado, la alta satisfacción con una actividad de este tipo y, por otro, la necesidad de seguir avanzando en formación que contribuya a mejorar las competencias de los investigadores para difundir los resultados de la ciencia biomédica a la sociedad, acortando distancias con el mundo científico y tecnológico. Esta acción formativa, gratuita y online, fue cofinanciada por la FECYT y acreditada por la Agencia de Calidad Sanitaria de Andalucía.

METODOLOGÍAS PARA LA CARACTERIZACIÓN Y CAPTURA DE CROMOSOMAS: SECUENCIACIÓN DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS TRAS CAPTURA POR CITOMETRÍA DE FLUJO, MICRODISECCIÓN LÁSER Y ESFERAS MAGNÉTICAS*R. Marrero-Díaz (1), O. Santiago (1), S. Cuenca (1), J. A. Marchal (2), M. J. Álvarez-Cubero (1, 3), L. J. Martínez-Gonzalez (1)*

1. GENYO. Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica. Av. Ilustración, 114. PTS. 18016. Granada. 2. Universidad de Granada. Departamento de Anatomía y Embriología Humana. Facultad de Medicina. PTS. 18016. Granada. 3. Universidad de Granada. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III. Facultad de Medicina. PTS. 18016. Granada

RESUMEN: El Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO) ha sido concebido como un espacio para la investigación sobre la base genética de enfermedades complejas, entre ellas el cáncer. La actividad desarrollada en nuestro centro se basa en el uso de tecnologías de alto rendimiento para el análisis de este tipo de patologías. Gracias a la labor conjunta de las distintas Unidades de Apoyo a la Investigación (UAIs), proporcionamos un enfoque holístico a los proyectos de investigación. Concretamente, nos ha permitido evaluar la caracterización y captura de cromosomas. Algunos cromosomas son difíciles de caracterizar por su contenido en regiones heterocromáticas y contener gran cantidad de secuencias repetidas. Esto hace necesario diseñar experimentos que nos permitan marcar y secuenciar específicamente los cromosomas para conocer las variaciones en su estructura. El enriquecimiento dirigido, es el enfoque más común para resolver este problema, pero las secuencias repetidas obligan a evaluar distintos abordajes que permitan recolectar poblaciones de cromosomas completos de forma previa a su secuenciación. La eficiencia de las diferentes tecnologías en la captura de un cromosoma es muy dispar. Un estudio previo realizado en nuestro centro en el cromosoma Y, determinó la capacidad de cada tecnología (citometría de flujo, microdisección láser y esferas magnéticas) Scientific Reports 8, Article number: 9436 (2018). Nuestros hallazgos revelaron que la metodología de captura basada en esferas magnéticas de estreptavidina-biotina ofrece una mejor cobertura de secuencia a la hora de capturar ADN, pero no nos posibilita la visualización y seguimiento de estos eventos. En el área de la microscopía óptica, la microdisección por captura láser (LCM) llevada a cabo en nuestro centro con el microdisector láser PALM Microbeam IV (ZEISS), se usa generalmente para seleccionar poblaciones celulares específicas a partir de secciones tisulares heterogéneas, pero también ha sido eficaz en el aislamiento de cromosomas individuales. Dentro de la microscopía se añaden una gran cantidad de metodologías esenciales para el estudio de un cromosoma, desde técnicas convencionales que permiten analizar alteraciones genómicas (aneuploidías, euploidías, poliploidías, etc.), hasta técnicas más complejas como la Hibridación in Situ Fluorescente (FISH) para estudios de alteraciones cromosómicas (reordenamientos cromosómicos, translocaciones, etc.). Sin embargo, una de las principales limitaciones de la microscopía de escaneo láser confocal, llevada a cabo en nuestro centro con el microscopio láser confocal LSM 710 (ZEISS), es el elevado consumo de tiempo para analizar grandes volúmenes de muestras. Este punto débil coincide con la principal fortaleza de la citometría de flujo, que puede analizar un gran número de partículas a gran velocidad. En la actualidad, junto con los principales parámetros aportados por un citómetro convencional, existen nuevos equipos que ofrecen una imagen microscópica de cada uno de los eventos analizados como el citómetro de imagen ImageStream® Mark II (Amnis, Luminex). Por otro lado, para conseguir el enriquecimiento de cromosomas, la separación por sorter del tipo FACSAria Fusion (BD Biosciences), nos permitió separar los cromosomas marcados con moléculas fluorescentes e hibridados con sondas biotiniladas. A continuación, estos cromosomas aislados pueden ser secuenciados a distintas escalas usando los equipos NextSeq 500 y MiSeq (Illumina Inc.). Por último, sea cual sea la tecnología empleada, es necesario el posterior análisis e interpretación de los datos, así como el desarrollo de nuevos métodos computacionales para el análisis bioinformático integrado de datos heterogéneos. En conclusión, se ha demostrado que para poder realizar abordajes complejos es imprescindible el uso coordinado de diferentes plataformas científico-tecnológicas.

PLATAFORMA DE CULTIVO CELULARES DEL IBS.GRANADA: SOPORTE CIENTÍFICO-TÉCNICO AL SERVICIO DEL INVESTIGADOR

Molina Molina, José Manuel; Muñoz de Rueda, Paloma

RESUMEN: El uso de sistemas de cultivo celular “in vitro” supone en la actualidad una plataforma tecnológica esencial para el desarrollo de múltiples investigaciones científicas en el área de biomedicina. La evolución que han experimentado estas técnicas durante las últimas décadas las han convertido en una herramienta imprescindible en el intento de desentrañar los mecanismos moleculares y celulares que suceden en todo proceso biológico. En este sentido, la plataforma de cultivos celulares perteneciente al instituto de investigación biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), es una de las trece plataformas tecnológicas de las que dispone actualmente dicho instituto. Se crea en el año 2014, como un servicio de apoyo científico-técnico a la comunidad científica del ibs.GRANADA, así como a cualquier institución pública o privada externa. Esta plataforma dispone de toda la infraestructura necesaria para el cultivo y mantenimiento de líneas celulares ofreciendo a sus usuarios en modo autoservicio, cultivar y experimentar con todo tipo de células de distintos orígenes, tanto cultivos primarios como líneas celulares establecidas. Además, también se ofrece la posibilidad de solicitar una gran variedad de técnicas en esta área de trabajo (carteras de servicio), que permitan el estudio y caracterización detallada de los cultivos celulares, tanto a nivel molecular como celular, claves para la correcta interpretación de los resultados obtenidos en los ensayos celulares. En particular, esta plataforma cuenta con de una amplia cartera de servicios, mediante la aplicación de diferentes técnicas para la detección de la actividad hormonal de compuestos puros ó mezclas de compuestos de diferente origen (disruptores endocrinos), no disponibles en otras instituciones, lo cual la hace ser una plataforma muy utilizada por personal externo al Instituto. Ofreciendo así, a los usuarios la posibilidad de evaluar “in vitro”, la interacción de compuestos disruptores endocrinos en diferentes líneas celulares tumorales humanas y frente a diversos receptores nucleares. En definitiva, el objetivo principal de la plataforma es el de prestar apoyo a los investigadores y además ser una estructura autofinanciable mediante la facturación de los servicios prestados.

SOMOS GRANADA-SOMOS SALUD

María Ogáyar Luque

RESUMEN: El grupo Granada Salud se creó a final de 2019 como una iniciativa de la entidad gestora del PTS, con la idea de unir a todas las entidades granadinas relacionadas con la salud y la empresa con la intención de trabajar conjuntamente y de manera coordinada tanto en la organización de evento y jornadas como en la difusión de las mismas. De esta manera conseguimos eventos mas potentes y atractivos, evitando duplicidades. Además se trabajó intensamente en identificar qué servicios ofrecían cada una de las entidades, se clasificaron en 7 bloques, los cuales a su vez, albergaban distintas categoría. De esa manera cualquier empresa del ámbito de las ciencias de la vida y la salud, que quiera saber que le ofrece granada podrá encontrarlo en la web de granada salud, accediendo a enlaces directos donde se detalla cada servicio. El grupo a día de hoy se reúne mensualmente para hacer puesta en común de proyectos y actividades y es un ejemplo de colaboración. El objetivo de Granada Salud es comunicar el potencial del territorio de Granada como motor de la innovación en el sector Salud. La iniciativa Granada Salud es un esfuerzo conjunto de las diferentes organizaciones públicas y privadas que promueven la ciencia y la innovación en materia de salud en Granada, y organiza la oferta de servicios existentes en el territorio para facilitar su conocimiento a cualquier entidad o persona interesada.

CITOMETRÍA DE FLUJO DE ALTA CAPACIDAD

Gustavo Ortiz Ferrón

RESUMEN: La Unidad de Citometría de Flujo del CIC en su sede del CIBM, ha adquirido recientemente para su servicio un citómetro analizador de alta capacidad de características muy singulares a nivel europeo. El citómetro cuenta con 6 láseres que posibilitan el análisis simultáneo de 30 fluorescencias (posibilidad de análisis espectral por software), además de la opción de 3 parámetros de scatter: FSC, SSC blue y SSC violet (ideal para eventos muy pequeños). Todo ello permitirá dar un gran salto cualitativo y cuantitativo a las investigaciones dentro del PTS. Además, el servicio también cuenta con un citómetro separador que permite la separación de hasta 4 poblaciones simultáneamente en condiciones de asepsia para cultivar las células o recogerlas para hacer biología molecular u otros análisis posteriores, incluido análisis de célula única o RT-PCR, entre otros. Se dará una visión muy actualizada sobre las nuevas posibilidades de la citometría de flujo en este servicio gracias al equipamiento adquirido recientemente.

PROQUINORTE

Ludwig Ortner Eurling

Proquinorte

RESUMEN: Proquinorte es una empresa presente en el mercado de la investigación desde hace más de 50 años primando siempre el servicio al usuario final e intentando cubrir las expectativas del mismo. En el caso de las Ciencias de la Vida, esta colaboración ha hecho que se haya evolucionado en dos direcciones, una en el apoyo en las últimas tecnologías en ciencia básica y aplicada. Gracias a ello, Proquinorte tiene una gran introducción en técnicas de PCR a tiempo real, PCR Digital, Microarrays y Secuenciación Masiva. En definitiva, que tenga los mejores resultados en su día a día. La otra dirección ha sido el apoyo a la clínica haciendo llegar las mejores soluciones según las necesidades e introduciendo las nuevas tecnologías en distintos servicios de los hospitales. Para ello se han creado alianzas con proveedores para la cesión de equipos; pero también se han desarrollado productos propios en los nichos donde no había una solución para una aplicación específica y esto se ha podido hacer por la relación con proveedores y usuarios para el desarrollo de nuevos productos. En definitiva, Proquinorte es una empresa innovadora con la misión clara de presentar las mejores soluciones estando cerca del usuario final y los proveedores.

FINANCIACIÓN DE PROYECTOS. FONDOS NEXT GENERATION

M^a. Carmen Pérez Bautista

RESUMEN: Finanzas I+D+i participó en el I Congreso de Investigación del PTS. En este II Congreso continuamos participando activamente fomentando el ecosistema del PTS y siendo visagra, entre el mundo académico - científico y el empresarial con una propuesta de acercamiento entre ambos ámbitos a través de la financiación de proyectos y fomentando de vocaciones emprendedoras. Se propone dar a conocer distintas herramientas de financiación, entre los que se encuentran los fondos Next Generation EU.

LA BIOIMAGEN AL SERVICIO DE LA INVESTIGACIÓN-DESCUBRIMIENTO Y DESARROLLO DE FÁRMACOS

Carmen Ramos, Thomas A. Mackenzie, Lorena Rodríguez, Olga Genilloud y Francisca Vicente

RESUMEN: La bioimagen celular y en concreto el llamado Cribado de alto contenido (High-Content Screening) es una de las tecnologías más valiosas en la investigación con cultivos celulares. Es útil tanto en las primeras etapas del Descubrimiento y Desarrollo de Fármacos como en el estudio de la bioseguridad de una candidato a fármaco. En Fundación MEDINA contamos con un equipo de esta naturaleza, en particular un sistema Opereta CLS de PerkinElmer. Hemos puesto a punto numerosos ensayos que, utilizando marcadores fluorescentes, aprovechan la imagen celular para cuantificar parámetros en diferentes orgánulos celulares, membrana o citoplasma, generando mucha más información que en un marcaje clásico. Esta aproximación favorece la automatización tanto en la toma de imágenes como en el análisis de las mismas. De esta forma utilizamos la bioimagen en proyectos de: i) búsqueda de antitumorales tanto en cultivos 2D como en 3D (esferas), utilizando como medida bien la citotoxicidad, bien ensayos basados en diana como la translocación celular; ii) Ensayos de genotoxicidad, para analizar la seguridad de un fármaco, como el test de micronúcleos; iii) Ensayos del perfil de bioseguridad de una molécula, utilizando el novedoso procedimiento de Pintura Celular (Cell Painting); iv) Fluorescencia de complementación bimolecular (BiFC), para visualizar interacciones proteína-proteína; v) Polimerización de fascina-actina in vitro; vi) Visualización de la infección vírica sobre células humanas; vii) Utilización de sensores de calcio en cultivos celulares. La mayoría de estas aproximaciones se realizan en placas de 384-pocillos lo que favorece el cribado de alto rendimiento, el análisis de muchos puntos en poco tiempo, el ahorro de reactivos y muestra y, con la incorporación del sistema de pipeteo basado en ondas acústicas Echo® 550 (Labcyte), que permite dispensar nanolitros sin utilización de puntas, el ahorro de plástico de laboratorio. Por todo ello, la utilización de estos sistemas de bioimagen abre un campo casi infinito de aproximaciones en investigación y en MEDINA nos ponemos a disposición de la comunidad investigadora para poder colaborar utilizando estos u otros sistemas de los que disponemos en la Fundación.

SERVICIOS DEL BIOBANCO DEL SISTEMA SANITARIO PÚBLICO DE ANDALUCÍA PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Martínez Moreno MC; Comisión de dirección del Biobanco del SSPA; Comisión de Calidad del Biobanco del SSPA; Campos Muñoz A

RESUMEN: El Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía (SSPA), es una plataforma de recursos para dar apoyo a la investigación biomédica y a la comunidad científica. Está configurado como un Biobanco en Red con una estructura organizativa descentralizada, con un marco ético-legal y administrativo común y un sistema de calidad transversal a toda la estructura. Se encuentra integrado por todas aquellas estructuras y unidades de los centros sanitarios públicos, bancos de líneas celulares y otros centros públicos que puedan obtener, procesar y conservar células, tejidos, sustancias y muestras biológicas para uso clínico o de investigación, constituidos como nodos del Biobanco. La estrecha vinculación con el Sistema Sanitario Público de Andalucía le otorga su singular valor y su potencial para distribuir de manera eficiente muestras y datos asociados. Su objetivo es fomentar la Investigación biomédica facilitando la labor de los investigadores, la participación de la ciudadanía y la sostenibilidad del Sistema Sanitario Público de Andalucía estableciendo una cadena de valor. Los servicios ofrecidos por el Biobanco del SSPA se rigen por los principios de calidad, transparencia, colaboración y permeabilidad hacia la comunidad científica biomédica, segmentándose en 4 grandes bloques:

1. Muestras Biológicas
 - 1.1. Provisión de muestras y datos asociados El Biobanco del SSPA ofrece todo tipo de muestras biológicas y sus datos asociados seleccionadas según los criterios clínicos y diagnósticos que el investigador especifique y en el formato solicitado. El Biobanco cuenta con un amplio stock de colecciones de muestras biológicas de origen humano procedentes de donantes con diversas patologías, así como de controles sanos.
 - 1.2. Procesamiento y caracterización El procesamiento, control de calidad y caracterización de las muestras biológicas y/o líneas celulares se llevan a cabo en diferentes unidades: la Unidad de estabilización de muestras y de biorrepositorio, la Unidad de Líneas Celulares, la Unidad de Control de Calidad Histológico y la Unidad de Control de Calidad Genético y de Biomarcadores.
 - 1.3. Preservación y biorrepositorio Cuenta con instalaciones para la preservación y conservación de muestras biológicas con la infraestructura y los sistemas de control necesarios, garantizando su integridad, seguridad y trazabilidad.
 - 1.4. Gestión y logística de recogida y distribución de muestras Soporte a proyectos multi-céntricos mediante la elaboración de protocolos, preparación de kits, gestión del envío, trazabilidad de muestras biológicas y documentación necesaria conforme a la legislación vigente aplicable.
2. Formación Se ofrecen diversos programas y actividades formativas que promueven el desarrollo competitivo de los profesionales de la biomedicina y de la investigación en salud.
3. Asesoramiento Se ofrece asesoramiento en aspectos ético-legales en la ejecución de proyectos de investigación biomédica que implican el uso de muestras biológicas humanas y datos asociados. También en técnicas y métodos de obtención, tratamiento, caracterización y control de calidad, preservación y almacenado de muestras biológicas, óptimos para el desarrollo de los objetivos del proyecto.
4. Servicios personalizados Las necesidades de los proyectos de investigación pueden variar enormemente, cada proyecto es único; por ello, el Biobanco del SSPA es capaz de adaptar los servicios a esas necesidades. Gracias a su estructura en red, su personal cualificado y su compromiso con la sociedad, la ética y el respeto hacia los derechos del donante, el Biobanco del SSPA fomenta la investigación biomédica facilitando a los investigadores el acceso a muestras biológicas y datos asociados. Más información en: <https://www.biobancosspa.com>

PONENCIAS

1. GeneCodis: Expanding the modular enrichment analysis to regulatory elements
2. Ancestral sequence reconstruction: evolutionary medicine and development of new biopharmaceutical proteins
3. Determinación de las cargas parasitarias en infecciones con Leishmania utilizando Algoritmos de Deep Learning
4. Modelo Computacional para Nanosistemas Magnéticos de respuesta combinada a radiofrecuencia y ultrasonido para liberación de fármacos
5. "Método multi-atributo" para la caracterización de modificaciones postrasduccionales en proteínas terapéuticas. Caso de estudio: ADALIMUMAB
6. An automatic method for fast detection and triage of COVID-19 in Chest X-ray Images
7. Uso de los métodos de Machine Learning para mejorar programas predictivos a edades tempranas de obesidad infantil

GENECODIS: EXPANDING THE MODULAR ENRICHMENT ANALYSIS TO REGULATORY ELEMENTS

A. García-Moreno, R. López-Domínguez, P. Carmona-Saez

RESUMEN: GeneCodis 4 is a web tool able to perform singular and modular enrichment analysis of genes, proteins, transcription factors, CpG sites and miRNAs and account for selection biases. This is implemented via a power weighting function for target genes and tested by the Wallenius noncentral hypergeometric distribution model. Additionally, for miRNAs, gene-based annotations are transformed to miRNA-based. Its database is extended with new and updated sources to include functional, regulatory, drugs and phenotypes collections. It provides new gene- and miRNA-annotation network visualisations in order to discover functional modules dynamically. To illustrate the new implementations, a set of miRNAs associated with arrhythmia is studied. GeneCodis4 is freely available at <https://genecodis.genyo.es>.

ANCESTRAL SEQUENCE RECONSTRUCTION: EVOLUTIONARY MEDICINE AND DEVELOPMENT OF NEW BIOPHARMACEUTICAL PROTEINS

Luis I. Gutierrez Rus

RESUMEN: La reconstrucción ancestral de secuencias (ASR) es una técnica bioinformática desarrollada durante las dos últimas décadas que nos permite inferir las secuencias de proteínas ancestrales para posteriormente resucitarlas en el laboratorio. Generalmente, estas proteínas resucitadas se utilizan con la finalidad de estudiar eventos evolutivos a escala molecular. Además, estas proteínas suelen presentar propiedades bioquímicas y biofísicas muy interesantes desde un punto de vista biotecnológico, como una mayor estabilidad, mayores niveles de actividad o de expresión. En este sentido, la ASR se ha posicionado como una herramienta biotecnológica de gran interés en el área de la biomedicina, posibilitando el estudio del origen evolutivo y molecular de diferentes enfermedades, así como el desarrollo de nuevas variantes con propiedades biofarmacéuticas mejoradas y mayor potencial para su uso como agentes biofarmacéuticos.

DETERMINACIÓN DE LAS CARGAS PARASITARIAS EN INFECCIONES CON LEISHMANIA UTILIZANDO ALGORITMOS DE DEEP LEARNING

Graciela Juez-Castillo, Brayan Valencia-Vidal, Lina M. Orrego, María Cabello-Donayre & José M. Pérez-Victoria

RESUMEN: El protozoo parásito *Leishmania* reside en los macrófagos de las personas infectadas, a las que provoca graves enfermedades desatendidas conocidas como leishmaniosis, que pueden ser fatales si no se tratan. Los medicamentos actuales tienen muchos problemas por lo que es urgente encontrar dianas terapéuticas para el desarrollo de nuevos fármacos. Un paso fundamental para la validación de nuevas dianas y para el cribado de fármacos requiere cuantificar los parásitos intracelulares (llamados amastigotes) dentro del macrófago. Tradicionalmente se realiza de forma manual, contando al microscopio óptico o de fluorescencia los parásitos teñidos, utilizando cientos de imágenes, lo que consume mucho tiempo. Recientemente, han surgido métodos de conteo automático como una alternativa a la cuantificación manual. Para *Leishmania*, el conteo automático se ha basado en procesos de segmentación de cada célula y posterior clasificación. Sin embargo, estos métodos convencionales de procesamiento de imágenes presentan dificultades si hay solapamiento de las células, alta confluencia o bordes difusos. Estos problemas pueden causar sobreestimación o subestimación de la carga parasitaria. En este trabajo proponemos un método basado en redes convolucionales de regresión (FCRNs) que supone una primera aproximación para estimar la carga parasitaria a partir de imágenes de microscopía de fluorescencia. En este método se crean mapas de densidad cuya integral está relacionada con el número de células que hay en la imagen. Los mapas de densidad se crean a partir del centro geométrico de cada célula por ello los problemas que se presentan con la segmentación no ocurren con este método. Para el desarrollo de este método se obtuvo un dataset de 417 imágenes con dos canales de fluorescencia: CellMask™ Deep Red utilizado para marcar el citoplasma de la célula hospedera y DAPI para la detección de los núcleos celulares (células y parásitos) y el kinetoplasto (ADN mitocondrial) del parásito. Las imágenes fueron obtenidas de usando macrófagos murinos infectados con *Leishmania* major a diferentes índices de multiplicidad de infección (5:1, 10:1 y 20:1 parásitos:célula) y tiempos post-infección (24 y 120 horas). De manera individual, 3 expertos realizaron el conteo manual de células totales, células infectadas y número de amastigotes intracelulares para cada uno de las condiciones evaluadas, con el fin de obtener la carga parasitaria de manera manual y obtener el ground truth (mapa de densidad real con el que se entrena la red neuronal). Para el desarrollo del algoritmo de deep learning, se entrenaron dos FCRNs para predecir dos mapas de densidad, uno relacionado a los parásitos intracelulares (FCRN-amastigote) y otro a macrófagos infectados (FCRN-host). El número de amastigotes y de células infectadas fueron obtenidos por integración del mapa de densidad correspondiente, la carga parasitaria se determinó como el radio entre el número de amastigotes y el número de macrófagos infectados en el total de imágenes analizadas por experimento. El conteo automático produjo resultados similares a la media del conteo manual de los 3 especialistas, con una considerable reducción de tiempo: 6 horas para el conteo manual de todas las imágenes por cada especialista frente a 34,2 segundos para el conteo con el método propuesto. Por lo tanto, el método automático propuesto es una alternativa eficiente para la determinación de la carga parasitaria. Como ejemplo de uso, se mostrarán análisis de infección de macrófagos con parásitos knock-outs para genes relacionados con el metabolismo del grupo hemo. Estos genes son de interés porque a diferencia de los mamíferos, *Leishmania* es auxótrofo para este metabolito. Los genes fueron elegidos a partir de un estudio transcriptómico que permitió seleccionar aquellos genes del parásito cuya expresión se altera por la presencia o ausencia de hemo. Algunos de estos genes mostraron ser importantes para la multiplicación intracelular del parásito.

MODELO COMPUTACIONAL PARA NANOSISTEMAS MAGNÉTICOS DE RESPUESTA COMBINADA A RADIOFRECUENCIA Y ULTRASONIDO PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Juan Melchor, Alireza Ashofte, Rafa Marqués, Antonio Callejas, Rafael Muñoz, Guillermo Rus.

RESUMEN: La hipertermia magnética es una forma eficaz de tratar el cáncer y mejorar la administración de fármacos. En este proceso, cuando las nanopartículas magnéticas se exponen al campo magnético, inician oscilaciones que podrían generar ondas de ultrasonido. Estas oscilaciones resultantes de las nanopartículas pueden conducir al movimiento de los liposomas portadores de fármacos, que pueden ser muy útiles para una dirección eficaz en la administración de fármacos. Este mecanismo de generación de ultrasonidos fue conjeturado por Carrey en 2013. En este estudio hemos desarrollado un modelo 3D de revolución con nanopartículas, dentro de un medio hiperelástico para entender los desplazamientos inducidos por la densidad de un flujo magnético establecido. La concentración de nanopartículas, la fracción de volumen, las propiedades del material y la intensidad del campo magnético son parámetros que hemos investigado y que se deben validar experimentalmente para diseñar un plan de tratamiento óptimo en la hipertermia por nanopartículas magnéticas. En este estudio se ha diseñado un modelo 3D de revolución de nanopartículas ferromagnéticas fijas y distribuidas aleatoriamente utilizando la metodología de elementos finitos para resolver los desplazamientos generados teniendo en cuenta la multifísica del problema. Se consideró como solenoide una bobina circular homogénea multivuelta con un voltaje de 10 V. Se asumió que las propiedades mecánicas de las nanopartículas eran las mismas que las de la magnetita, mientras que las matrices de acoplamiento piezo-magnéticas se introdujeron para simular su comportamiento magnetoestrictivo. Apartir de estas propiedades, se calculó el gradiente del campo de desplazamiento del modelo 3D de revolución y el contorno de densidad de flujo magnético del modelo 3D en las posibles zonas de detección de ultrasonidos para un experimento in vitro. Los resultados del modelo 3D en términos de campo magnético mostraron una densidad de flujo magnético máxima de 0.96 T, que podría inducir fuerzas magnéticas. Por tanto, la fuerza magnética puede provocar el desplazamiento de las nanopartículas magnéticas. Además, Los resultados del modelo 3D muestran desplazamientos de las nanopartículas del orden de 10^{-9} m con lo cual se prevé la detección de una onda a nivel experimental que todavía está por optimizar para maximizar su detección. Los desplazamientos de nanopartículas inducidos podrían deberse a la generación de ultrasonidos y se concluye que en tal caso se validaría la hipótesis conjeturada computacionalmente, a la espera de su detección experimental en laboratorio. Esto supondría sentar las bases para trabajar en un nuevo y futuro sistema de imagen médica muy útil mejorar la eficiencia de la administración del fármaco.

“MÉTODO MULTI-ATRIBUTO” PARA LA CARACTERIZACIÓN DE MODIFICACIONES POSTRASDUCIONALES EN PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS. CASO DE ESTUDIO: ADALIMUMAB

Raquel Pérez-Robles (1,2,3), Antonio Salmerón-García (1,4), Jose Cabeza (1,4), Natalia Navas (1,3)

1. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, Spain. 2. Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental-Alejandro Otero, Granada, Spain. 3. Department of Analytical Chemistry, Science Faculty, University of Granada, Granada, Spain. 4. Department of Clinical Pharmacy, San Cecilio University Hospital, Granada, Spain.

RESUMEN: Los anticuerpos monoclonales (mAb) son una clase de fármacos biotecnológicos que constituyen, actualmente, el grupo más importante de proteínas terapéuticas, tanto en el mercado como en fase de desarrollo. Los mAbs son empleados mundialmente en el tratamiento de enfermedades de gran prevalencia, como el cáncer y enfermedades autoinmunes. Desde un punto de vista estructural, los mAb son grandes glicoproteínas de alta complejidad y gran tamaño (150 kDa aprox). Existen modificaciones postrasducionales (PTM) de diversa naturaleza (oxidaciones, deamidaciones, isomerizaciones, ciclaciones, etc) que se producen durante el proceso de desarrollo, producción y almacenamiento del biofármaco. Además, a la estructura proteica de los mAb se unen cadenas de azúcares denominados glicanos que pueden tener efectos significativos en su actividad y eficacia como terapéutico. Estas modificaciones, consideradas atributos críticos de la calidad (CQA), aumentan la complejidad de estas proteínas y de su caracterización estructural, imprescindible en cualquier etapa desde su desarrollo ya que están directamente relacionadas con su seguridad y eficacia. La elevada heterogeneidad -debida a las PTM- de estos biofármacos, se traduce en una alta complejidad de los estudios que necesiten abordar la estructura de los mAbs. Mediante técnicas analíticas de alta resolución es posible la detección e identificación de las entidades proteicas que conforman el principio activo de estos medicamentos biotecnológicos. Los métodos multi-atributos (MAM, del inglés “multi-attribute methods”) basados en LC-MS han ganado interés en los últimos años, ya que son métodos analíticos capaces de controlar varios CQAs simultáneamente, lo que ayuda a mejorar la eficiencia y reducir los costes del desarrollo de estos biofármacos. Especialmente los MAM basados en “peptide mapping” o mapeo peptídico de un digerido de péptidos representan una herramienta precisa e útil en la caracterización simultánea de PTMs. Se espera que un MAM suministre información cualitativa y cuantitativa con un alto grado de selectividad y sensibilidad. Los datos que generan estos métodos son muy complejos por lo que es necesario hacer uso de programas bioinformáticos específicos que permitan simplificar la información. Estos métodos se basan en 3 etapas principales: 1) preparación de la muestra, que usualmente involucra la desnaturalización, reducción, alquilación y digestión enzimática; 2) separación cromatográfica de fase reversa del digerido de péptidos generado tras la digestión enzimática y detección mediante espectrometría de masas de alta resolución; y 3) análisis bioinformático de los datos complejos obtenidos. En este trabajo presentamos un MAM que permite identificar y cuantificar eficazmente PTMs en proteínas terapéuticas, basado en “peptide mapping” y en cromatografía de líquidos de fase reversa acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (RP/UHPLC-(Orbitrap)MS/MS). Se ha optimizado tanto el proceso de preparación de la muestra como el de tratamiento de datos. Como caso de aplicación se ha caracterizado y cuantificado las PTMs del mAb terapéutico adalimumab en su medicamento original Humira® (40mg) en condiciones de uso hospitalario.

AN AUTOMATIC METHOD FOR FAST DETECTION AND TRIAGE OF COVID-19 IN CHEST X-RAY IMAGES

José Luis Martín Rodríguez

RESUMEN: Currently, Coronavirus disease (COVID-19) is diagnosed using RT-PCR testing, CT (Computed Tomography) scans or Chest X-Ray (CXR) images. CT scanners and RT-PCR testing are expensive and unavailable in most medical centers especially in developing countries. In many cases CXR images become the unique tool for assisting clinicians in making decisions. The use of this resource can be further improved by providing an automatic detector and triage system able to detect COVID-19 in CXR images in real-time. Such tool can help clinicians make faster and more reliable diagnosis and hence serve more patients in the same time interval. The aim of this project is to build a fast, robust and precise triage system able to detect the three levels of severity of the COVID-19, mild, moderate and severe [1] in CXR images. To achieve this goal, we are using 1) state-of-the-art deep learning models for detecting the different levels of severity, 2) explainability methods to indicate the findings in the CXR image that produced the system prediction and 3) federated learning to make the models more robust to more X-ray equipment. The proposed intelligent system can speed up the triage process for detecting patients infected with COVID-19, especially mild and moderate patients, which are the most important levels to detect. Clinicians can have a second opinion with the respective findings indicated in the input X-ray image, which is valuable to obtain a better final decision. The proposed tool can run in any computational device such as tablet, smartphone (via App) and PC. With this tool more patients can have access to radiology services. The proposed tool can be used online or offline without much computational requirements. It can be run very fast in a standard computer. It is meant to be used as support for medical decision. Several studies [2] showed that two thirds of the world population does not have access to basic radiologist services. The proposed intelligent tool can increase productivity of clinicians and hence more patients can have access to a basic radiologist services. The proposed tool is sustainable, it does not require special computational systems, it can run in an ordinary computer. The potential benefits of this tool are evident as more patients can be served appropriately and with less resources. This system could be implemented (at relatively low cost) in countries with few health care resources where identifying and isolating infected patients would help containing possible outbreaks through our automated fast triage and screening assessment method. We started working on this project in march 2020. In collaboration with the Radiology Service of Hospital-Universitario-Clinico-San-Cecilio and the Andalusian-Research-Institute-in-Data-Science-and-Computational, Spain, we created a first quality dataset for building the proposed tool [3]. Our preliminary model achieves a global accuracy of 81% in COVID-19 versus NO-COVID-10, with a sensitivity of 97.37% in severe level, 88.14% in moderate and 66.5% in mild. We are working on extending the dataset with X-ray images from different international hospitals.

[1] Wong, H., et al., 2020. Frequency and distribution of chest radiographic findings in COVID-19 positive patients. *Radiology*, 201160. [2] Waite, S., Scott, J., Gale, B., Fuchs, T., Kolla, S., & Reede, D. (2017). Interpretive error in radiology. *American Journal of Roentgenology*, 208(4), 739-749. [3] Tabik S, Gomez-Rios A, Martin-Rodriguez JL, Sevillano-Garcia I, Rey-Area M, Charte D, Guirado E, Suarez JL, Luengo J, Valero-Gonzalez MA, Garcia-Villanova P, Olmedo-Sanchez E, Herrera F. COVIDGR Dataset and COVID-SDNet Methodology for Predicting COVID-19 Based on Chest X-Ray Images. *IEEE J Biomed Health Inform.* 2020 Dec;24(12):3595-3605. doi: 10.1109/JBHI.2020.3037127. Epub 2020 Dec 4. PMID: 33170789.

USO DE LOS MÉTODOS DE MACHINE LEARNING PARA MEJORAR PROGRAMAS PREDICTIVOS A EDADES TEMPRANAS DE OBESIDAD INFANTIL

Álvaro Torres-Martos(1), Augusto Anguita-Ruiz(1,2,3), Mireia Bustos-Aibar(1), Rafael Alcalá(4), Concepción M. Aguilera(1,3) and Jesús Alcalá-Fdez(4)

RESUMEN: El sobrepeso y la obesidad en los niños son importantes factores de riesgo para una serie de alteraciones cardiometabólicas crónicas durante la edad adulta, que aumentan considerablemente la morbimortalidad de la población. Para abordar este problema de forma eficaz, es urgente poner en marcha programas predictivos en edades tempranas capaces de abordar el problema desde su origen, cuando aún se está a tiempo de actuar clínicamente. La resistencia a la insulina es una de las comorbilidades metabólicas de la obesidad que muestra una aparición más temprana en la vida, por lo que se ha convertido en una piedra angular en la prevención de las comorbilidades asociadas a la obesidad. En el presente trabajo, utilizamos varios algoritmos de aprendizaje automático para la construcción de modelos predictivos de resistencia a la insulina puberal en niños con obesidad. Para ello, empleamos información de la etapa prepuberal de los niños (de 4 a 12 años) que consta de tres capas de datos: antropometría, biomarcadores cardiometabólicos e inflamatorios; variantes genéticas; y medidas de metilación del ADN. Entre los modelos de aprendizaje automático probados, hemos seleccionado una batería de algoritmos basados en árboles que proporcionan modelos con alta capacidad predictiva, como Random Forest, eXtreme Gradient Boost, etc. El mejor modelo lo proporcionó el algoritmo Random Forest cuya precisión, sensibilidad, especificidad y coeficiente kappa fue de 0,79, 0,84, 0,73 y 0,54, respectivamente. Es interesante señalar que el ratio de adiponectina y leptina podría ser un gran biomarcador para predecir la resistencia a la insulina. Además, se ha encontrado que los patrones de metilación en los genes CTBP2, HDAC4, PTPRN2, RASGRF1 y TMEM30C podrían ser útiles para la predicción de la resistencia a la insulina. El uso de estas herramientas predictivas desde edades tempranas podría mejorar la atención sanitaria y el conocimiento de los niños con obesidad que tienen un alto riesgo de desarrollar alteraciones cardiometabólicas durante la edad adulta.

PÓSTERS

1. Capacidad cardiorrespiratoria y calidad de vida relacionada con la salud en adultos mayores cognitivamente sanos. Estudio transversal del ensayo AGUEDA
2. Asociaciones entre indicadores de composición corporal y memoria de trabajo en adultos mayores cognitivamente sanos: el Proyecto AGUEDA
3. Epigenética, RNA y enfermedades neurodegenerativas
4. Variabilidad de la marcha e inhibición cognitiva en adultos mayores cognitivos sanos: Proyecto AGUEDA
5. Generación de un ensayo in vitro para evaluar el efecto de fármacos antipsicóticos en la sinaptogénesis
6. Las ratas adolescentes muestran una menor activación neural que las adultas en la corteza prefrontal medial ante un sabor nuevo
7. Caracterización de la interacción de TCERG1 y NOLC1 y su implicación funcional
8. Fuerza muscular y marcadores neurodegenerativos en adultos cognitivamente sanos. El proyecto AGUEDA
9. Nanosistemas lipídicos como vehiculizadores de fármacos a través de la BHE
10. Parp3 promotes astrocytic differentiation through a tight regulation of Nox4-induced ROS and mTorc2 activation
11. Fuerza muscular y control inhibitorio en adultos mayores cognitivamente sanos: Estudio AGUEDA
12. Nano partículas de quitosan como transportadores de fármacos en enfermedades neurodegenerativas
13. Relación entre la capacidad cardiorrespiratoria y la memoria de trabajo durante el envejecimiento. Un estudio transversal del proyecto AGUEDA
14. El papel del contexto y la cognición en el consumo la preferencia por soluciones dulces en ratas
15. Diferencias en consumo de alcohol tipo binge en ratas macho adultas y adolescentes

CAPACIDAD CARDIORRESPIRATORIA Y CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD EN ADULTOS MAYORES COGNITIVAMENTE SANOS. ESTUDIO TRANSVERSAL DEL ENSAYO AGUEDA

Dario Bellon, Patricio Solis-Urra, Jose Mora-Gonzalez, Marcos Olvera-Rojas, Beatriz Fernandez-Gamez, Angel Toval, Andrea Coca-Pulido, Alessandro Sclafani, Daniel J, Rivas-Navas, Verónica Cabanas-Sánchez, Maria Rodriguez-Ayllon, Socorro Navarrete, Francisco B.Ortega, Irene Esteban-Cornejo.

RESUMEN: El objetivo del trabajo es examinar las asociaciones de la capacidad cardiorrespiratoria con la calidad de vida relacionada con la salud en adultos mayores cognitivamente sanos. Para ello se ha realizado un análisis transversal anidado en el ensayo controlado aleatorio AGUEDA. Se incluyó en el presente análisis una muestra de 65 adultos mayores cognitivamente sanos de entre 65 y 80 años (42% hombres). La capacidad cardiorrespiratoria se evaluó mediante las pruebas de marcha de 6 minutos (distancia total recorrida en metros) y de 2 kilómetros (tiempo total recorrido en minutos). La calidad de vida relacionada con la salud se evaluó mediante el cuestionario SF-36, y se calcularon 8 componentes diferentes: función física, limitaciones de roles debido a la salud física, limitaciones de roles debido a problemas emocionales, energía/fatiga, bienestar emocional, funcionamiento social, dolor y salud general. Se realizaron regresiones lineales utilizando los indicadores de capacidad cardiorrespiratoria como variables predictoras y los 8 componentes del SF-36 como variables dependientes en modelos separados ajustados por sexo, edad y años de educación. Todos los análisis se realizaron con Rstudio para Windows versión 4.1.1. Se encontraron asociaciones positivas entre la distancia recorrida en la prueba de marcha de 6 minutos y varios componentes del SF-36: funcionamiento físico ($\beta = 0,429$; $p < 0,001$), limitaciones de rol debido a la salud física ($\beta = 0,441$; $p < 0,001$), energía / fatiga ($\beta = 0,263$; $p = 0,041$), funcionamiento social ($\beta = 0,309$; $p = 0,020$) y salud general ($\beta = 0,452$; $p < 0,001$). Además, se encontraron asociaciones favorables entre el tiempo de finalización en la prueba de caminata de 2 km y varios componentes del SF-36: funcionamiento físico ($\beta = -0,470$; $p < 0,001$), limitaciones de rol debido a la salud física ($\beta = -0,496$; $p < 0,001$), energía / fatiga ($\beta = -0,306$; $p = 0,012$) y salud general ($\beta = -0,419$; $p = 0,05$). En conclusión, la capacidad cardiorrespiratoria se asocia con componentes físicos, pero no mentales de la calidad de vida relacionada con la salud. La función física, las limitaciones de rol debidas a la salud física y la salud general fueron los componentes del SF-36 con una mayor asociación con la capacidad cardiorrespiratoria.

ASOCIACIONES ENTRE INDICADORES DE COMPOSICIÓN CORPORAL Y MEMORIA DE TRABAJO EN ADULTOS MAYORES COGNITIVAMENTE SANOS: EL PROYECTO AGUEDA

Andrea Coca-Pulido, Jose Mora-Gonzalez, Patricio Solis-Urra, Angel Toval, Beatriz Fernandez-Gamez, Marcos Olvera-Rojas, Dario Bellon, Alessandro Sclafania, Cristian Peña – Gonzalez, Juan Verdejo-Roman, Eva M. Triviño-Ibañez, Andres Catena, Irene Esteban-Cornejo.

RESUMEN: El objetivo del proyecto es investigar las asociaciones de diferentes indicadores de composición corporal con la memoria de trabajo en adultos mayores cognitivamente sanos. Para ello se ha realizado un estudio transversal del ensayo aleatorio controlado AGUEDA en el que participaron 69 adultos mayores cognitivamente sanos (47% hombres) de $70,6 \pm 3,6$ años de edad. Los indicadores de composición corporal incluidos fueron las circunferencias del cuello, la cintura y la cadera, la relación cintura-talla y el índice de masa corporal (IMC). La memoria de trabajo se evaluó mediante una tarea N-back computarizada con dos condiciones experimentales (cargas de memoria de trabajo bajas y altas); se calculó la precisión de la respuesta (PRE,%), el tiempo de reacción (TR,segundos) y el ratioPRE/TR para cada condición. Los análisis de regresión se realizaron por separado para cada variable predictora (medidas de composición corporal) y cada indicador de la memoria de trabajo. Se utilizaron dos modelos de regresión: el modelo 1 estaba controlado por el sexo, la edad y los años de educación; en el modelo 2 se ajustó adicionalmente por el IMC. En el modelo 1, todos los indicadores de composición corporal se asociaron negativamente con el TR en la carga de memoria de trabajo baja (β en rango de -0,422 a -0,686, $p \leq 0,002$), y la circunferencia del cuello también se asoció con la relación PRE/TR en la carga de memoria de trabajo baja ($\beta = 0,459$, $p = 0,016$). En el caso de la carga de memoria de trabajo alta, la circunferencia de la cintura y la cadera se asociaron significativamente con el TR ($\beta = -0,371$, $p = 0,036$; $\beta = -0,299$, $p = 0,046$, respectivamente) y la circunferencia del cuello y la relación cintura-talla se asociaron marginalmente con el TR ($\beta = -0,365$, $p = 0,098$; $\beta = -0,273$, $p = 0,085$, respectivamente). No se encontraron otras asociaciones entre los indicadores de composición corporal y otras variables de la memoria de trabajo (todas $p > 0,05$). En el modelo 2, después de ajustar adicionalmente por el IMC, todas las asociaciones desaparecieron, excepto las asociaciones de la circunferencia del cuello con la relación PRE/RT ($\beta = 0,511$, $p = 0,031$) y el RT ($\beta = -0,511$, $p = 0,015$) en la carga de memoria de trabajo baja. Conclusiones: Nuestros resultados ponen de manifiesto que todos los indicadores de composición corporal pueden estar asociados a menor TR en una tarea de memoria de trabajo en adultos mayores cognitivamente sanos; sin embargo, el IMC parece atenuar la mayoría de las asociaciones. Futuros estudios con muestras mayores son necesarios para confirmar o rechazar si estos u otros indicadores de composición corporal pueden predecir la memoria de trabajo en esta población.

EPIGENÉTICA, RNA Y ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

María Duarte Ruiz, Cristina Moreno Castro, Ana Calero García, Cristina Hernández-Munain, Carles Suñé

RESUMEN: Mecanismos reguladores epigenéticos, tales como las modificaciones postraduccionales de las histonas, son esenciales para mantener la identidad celular y alteraciones en estos procesos son la causa de múltiples enfermedades humanas, incluidas enfermedades neurodegenerativas y cáncer. Recientemente, la actividad epigenética de los complejos Polycomb ha sido asociada a la enfermedad de Huntington (EH) y en general a trastornos neurodegenerativos. La deficiencia in vivo de estos complejos en células del cuerpo estriado (que recibe la información de la corteza cerebral) provoca la activación de genes no neuronales que provocan una fisiología neuronal alterada y el desarrollo de una progresiva y deletérea neurodegeneración. En esta comunicación presentaremos nuestros esfuerzos en la identificación de factores de la transcripción y el procesamiento del RNA, previamente relacionados con enfermedades neurodegenerativas, que participan en la actividad de los complejos epigenéticos de Polycomb para regular importantes genes neuronales.

VARIABILIDAD DE LA MARCHA E INHIBICIÓN COGNITIVA EN ADULTOS MAYORES COGNITIVOS SANOS: PROYECTO AGUEDA

Beatriz Fernandez-Gamez, Patricio Solis-Urra, Emilio J. Ruiz-Malagón, Jose Mora-Gonzalez, Andrea Coca-Pulido, Marcos Olvera-Rojas, Dario Bellon, Angel Toval, Alessandro Sclafania, Rosa Maria Lozano Martinez, Kirk I. Erickson, Irene Esteban-Cornejo

RESUMEN: Las alteraciones en la marcha en los adultos mayores se han asociado con caídas, demencia y discapacidad. La marcha se ha asociado fuertemente con la función cognitiva global y múltiples dominios cognitivos; sin embargo, las investigaciones previas se han centrado específicamente en los parámetros de la marcha individual. En este estudio examinamos la asociación entre diferentes parámetros de variabilidad de la marcha y la inhibición cognitiva en adultos mayores cognitivamente sanos. Cincuenta y siete adultos cognitivamente sanos, de 65 a 80 años (36 mujeres), participaron en el presente análisis transversal del ensayo AGUEDA. Utilizamos el sistema Opto-Gait (Microgate, Italia) para evaluar los parámetros de variabilidad de la marcha. Los participantes debían caminar 5 min a su ritmo máximo de caminata por un circuito, registrando al menos 150 pasos por cada participante. Calculamos diferentes parámetros de variabilidad de la marcha, específicamente, utilizamos la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de la longitud de la zancada (cm), el tiempo de la zancada (s) y la cadencia (Paso / min). La inhibición cognitiva se midió mediante la prueba de Stroop con dos condiciones diferentes (congruente e incongruente). Se registraron la precisión (%) y el tiempo de reacción (s), y se calculó el ratioprecisión / tiempo de reacción (Acc / Rt). Se utilizaron modelos de regresión lineal que incluían parámetros de variabilidad de la marcha como predictores y variables de inhibición cognitiva como outcomes. Se incluyeron como covariables el sexo, la edad y los años de educación. No se encontraron asociaciones significativas entre ninguno de los parámetros de variabilidad de la marcha y el tiempo de reacción y la precisión en las condiciones congruentes (rango beta de -0.027 a -0.062, todos $P > 0.05$) e incongruentes (rango beta de -0.103 a -0.134, todos $P > 0.05$) de la tarea de Stroop (todos $P > 0.05$). En conclusión, los parámetros de variabilidad de la marcha parecen no estar asociados con la inhibición cognitiva en adultos mayores cognitivamente sanos. Se necesitan ensayos controlados aleatorios basados en ejercicio para evaluar si mejoras en la variabilidad de la marcha es un indicador de deterioro cognitivo temprano, en adultos mayores.

GENERACIÓN DE UN ENSAYO IN VITRO PARA EVALUAR EL EFECTO DE FÁRMACOS ANTIPSICÓTICOS EN LA SINAPTOGÉNESIS

María Martín-Estebané, David Martín-Oliva, Juan F. López-Giménez

RESUMEN: Actualmente, los denominados fármacos antipsicóticos atípicos como la clozapina, son generalmente utilizados en la práctica clínica para el tratamiento de la esquizofrenia. Estos fármacos se unen directamente a receptores acoplados a proteínas G, provocando una cascada de señalización dependiente de este acoplamiento, aunque también presentan afinidad por el receptor de serotonina 5-HT_{2A}, ampliamente expresado en el sistema nervioso central. Resultados preliminares de nuestro grupo han demostrado que la clozapina ejerce una actividad intrínseca al interactuar con receptores 5-HT_{2A}, independiente de la activación de la ruta de señalización clásica. Además, se ha descrito que el tratamiento crónico con clozapina afecta negativamente a la remodelación sináptica y los procesos cognitivos en modelos experimentales de ratón. Por todo ello, es necesario entender en mayor profundidad el mecanismo de acción molecular de estos fármacos antipsicóticos y sus posibles efectos en procesos tan importantes como la plasticidad neuronal. Con este objetivo, hemos generado un modelo in vitro basado en el cultivo de precursores neurales obtenidos a partir de tejido de corteza fetal de ratón, para su posterior diferenciación a neuronas corticales. La corteza prefrontal fetal es obtenida en el día 12 de desarrollo embrionario (E12) y la suspensión celular resultante es cultivada en un medio de cultivo específico para su mantenimiento. Estos precursores neurales crecen como un cultivo adherente en monocapa y su alta capacidad proliferativa permite mantenerlos en cultivo de forma prolongada, pudiendo ser posteriormente diferenciados a neuronas utilizando medios de cultivo selectivos. Las neuronas derivadas de precursores neurales fetales representan un modelo in vitro ideal para mimetizar la diana celular y farmacológica de los fármacos antipsicóticos atípicos. Utilizando este modelo in vitro, hemos desarrollado un ensayo basado en la tecnología del virus de la rabia, para estudiar los efectos de los fármacos antipsicóticos en la sinaptogénesis y la plasticidad neuronal. La modificación genética del virus junto con su capacidad natural para infectar de manera retrógrada y selectiva las neuronas, nos permite utilizar esta herramienta para identificar neuronas conectadas a través de sinapsis funcionales y, de este modo, estudiar los posibles efectos de los fármacos antipsicóticos en la sinaptogénesis así como profundizar en el conocimiento de su mecanismo de acción.

LAS RATAS ADOLESCENTES MUESTRAN UNA MENOR ACTIVACIÓN NEURAL QUE LAS ADULTAS EN LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL ANTE UN SABOR NUEVO

Menchén-Márquez S., Vázquez-Ágredos, A., Expósito A.N., Gámiz F. y Gallo M

RESUMEN: Los sabores desconocidos desencadenan una respuesta de ingestión cautelosa, denominada neofobia gustativa, consistente en la reducción de la cantidad ingerida. Este fenómeno cumple una función importante para la supervivencia ya que protege de la ingestión de alimentos potencialmente tóxicos. Se trata de un mecanismo descrito en todas las especies mamíferas, incluyendo el ser humano. En roedores adultos se ha descrito un circuito cerebral implicado en la neofobia gustativa y su atenuación, una vez que la ausencia de consecuencias convierte el sabor en seguro. Entre otras áreas cerebrales, resultados previos de nuestro laboratorio han apuntado a la corteza prefrontal medial (mPFC) como una estructura relevante en la formación de los recuerdos gustativos seguros. Una aproximación de desarrollo se beneficia de la modalidad gustativa ya que la neofobia gustativa sufre modificaciones a lo largo de la vida, tal como el incremento a edades avanzadas hallado previamente en nuestro laboratorio. Por su parte, la adolescencia es una etapa del desarrollo caracterizada por un comportamiento peculiar que incluye búsqueda de la novedad. Ello se corresponde con grandes cambios en la organización cerebral que están determinados en buena medida por la maduración tardía de la corteza prefrontal y su interacción con otras áreas cerebrales. Por tanto, es de especial interés comparar la respuesta de la corteza prefrontal asociada a la neofobia gustativa en ratas adolescentes (PN28-42) versus ratas adultas (PN 90). Ratas Wistar macho adolescentes (n=18) y adultas (n=17) fueron expuestas durante 15 minutos a una solución novedosa de vinagre de sidra (3%) en agua. Seguidamente, las ratas fueron sacrificadas, y su cerebro fue extraído y procesado para someterlo a una tinción de inmunohistoquímica de c-Fos, a fin de cuantificar la actividad neuronal en mPFC, incluyendo corteza prelímbica e infralímbica. Los resultados indicaron una activación significativamente menor en el grupo adolescente que en el adulto, aun cuando ambos grupos muestran neofobia en una primera experiencia con este sabor. Estos datos pueden indicar una menor implicación de mPFC en la respuesta a la novedad durante la adolescencia, lo que sería congruente con la maduración tardía de la corteza prefrontal. Se requiere más investigación para explorar el circuito responsable de la neofobia gustativa y su atenuación durante la adolescencia.

Financiado por los proyectos PSI2017-86381-P (MINECO, Spain), PID2020-114269GB-I00 (MICINN, Spain), BSEJ.514. UGR20 (Junta de Andalucía, Spain) y la beca FPU16/06017 (MECD, Spain) concedida a Menchén-Márquez S.

CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE TCERG1 Y NOLC1 Y SU IMPLICACIÓN FUNCIONAL

Cristina Moreno Castro, Noelia Esteban Rodríguez, Sandra Jiménez Lozano, Cristina Hernández-Munain, Carles Suñé

RESUMEN: El estudio de la organización espacial de los distintos subdominios o cuerpos nucleares en relación a la transcripción y el procesamiento del RNA es esencial para entender como sucede la regulación de la expresión génica en la célula. Alteraciones funcionales y/o morfológicas en la compartimentación nuclear puede ser una característica etiopatológica importante en las enfermedades neurodegenerativas, un campo científico que apenas está comenzando a emerger. TCERG1 es una proteína humana muy conservada que participa en la transcripción y el splicing del pre-mRNA y que ha sido implicada en la patogénesis de la enfermedad de Huntington. TCERG1 se localiza en la interfase de los speckles, cuerpos nucleares donde se acumulan los factores de splicing, y los sitios activos de la transcripción, afectando al procesamiento del pre-mRNA. Nuestro laboratorio ha identificado en TCERG1 la señal de localización de la proteína a esas regiones y su interacción con la fosfoproteína NOLC1, la cual se acumula en el nucleolo y en los Cuerpos de Cajal (CBs), orgánulos nucleares esenciales en la biogénesis de los small nuclear RNAs (snRNAs) que regulan el splicing del pre-mRNA. Los CBs son particularmente prominentes en las neuronas, donde frecuentemente se asocian con el nucleolo. La alteración y pérdida de los CBs neuronales se asocian con disfunciones neuronales graves en varios trastornos neurológicos, como las enfermedades de las neuronas motoras, donde la transcripción y el procesamiento del pre-mRNA se encuentran alterados. Nuestro laboratorio ha descrito recientemente el requerimiento de TCERG1 para la correcta formación de los CBs y su participación en la biogénesis de los snRNAs (PMID: 31636114). Aquí presentaremos datos recientes sobre la caracterización bioquímica de la interacción TCERG1/NOLC1 en los CBs con el fin de entender las interacciones moleculares que rigen la arquitectura de los CBs en condiciones normales y patológicas.

FUERZA MUSCULAR Y MARCADORES NEURODEGENERATIVOS EN ADULTOS COGNITIVAMENTE SANOS. EL PROYECTO AGUEDA

Marcos Olvera-Rojas, Patricio Solis-Urra, Jose Mora-Gonzalez, Alessandro Sclafani, Beatriz Fernandez-Gamez, Angel Toval, Andrea Coca-Pulido, Dario Bellon, Yolanda García-Rivero, Maria Jose Gerez, Ines Gomez, Kirk I. Erickson, Francisco B. Ortega, Manuel Gomez-Rio e Irene Esteban-Cornejo

RESUMEN: En los últimos años ha habido un aumento en la esperanza de vida, y en consecuencia, el riesgo de sufrir una enfermedad neurodegenerativa es mayor. Biomarcadores de diagnóstico y pronóstico son necesarios para la detección temprana y la predicción del transcurso de las enfermedades neurodegenerativas. La creatinina se ha asociado a la pérdida de materia blanca en los adultos mayores, y la amiloide A se encuentra sobrerregulada en el glioblastoma (tumores cerebrales de crecimiento rápido y agresivo). Aquí, estudiamos la asociación de la fuerza muscular con los niveles de creatinina y amiloide A en adultos mayores cognitivamente sanos. Este estudio incluyó datos transversales de 46 adultos mayores de entre 65-80 años (65% mujeres) que participaron en el ensayo controlado aleatorizado del proyecto AGUEDA. La fuerza muscular isocinética de la parte superior e inferior del cuerpo se midió con la máquina Gymnax Iso 2, y se calculó el pico de fuerza máximo relativo al peso (Nm/kg). La fuerza de presión manual relativa al peso (kg/kg) se midió con el dinamómetro de agarre TKK 5101. Los niveles plasmáticos de creatinina se determinaron por el método de Jaffe y los niveles de amiloide A se determinaron mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA). Los valores β estandarizados se obtuvieron a partir de modelos de regresión ajustados por sexo, edad y años de educación. La fuerza de presión manual se asoció negativamente con el amiloide A ($\beta_{\text{stand}} = -0,43$; $p=0,036$), pero no con la creatinina ($\beta_{\text{stand}} = -0,26$; $p=0,162$). No se encontró ninguna asociación para el pico de fuerza máximo con el amiloide A ($\beta_{\text{stand}} = -0,13$; $p=0,402$) y la creatinina ($\beta_{\text{stand}} = -0,22$; $p=0,128$). La fuerza de presión manual, pero no el pico de fuerza máximo, puede estar asociada con niveles más bajos de amiloide A en adultos mayores cognitivamente sanos. Sin embargo, no parece haber una asociación entre la fuerza muscular y la creatinina. Los ensayos controlados aleatorizados basados en el ejercicio ayudarán a determinar si los cambios inducidos por el ejercicio en la fuerza muscular podrían modificar de forma significativa los niveles de estos biomarcadores.

NANOSISTEMAS LIPÍDICOS COMO VEHICULIZADORES DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA BHE

Ortega, Elena; Morales, M^a Encarnación; Castillo-González, Julia; González-Rey, Elena; Ruiz, M^a Adolfinna.

RESUMEN: Las enfermedades neurológicas constituyen un problema de salud extendido a nivel mundial cuya prevalencia se encuentra en auge debido al aumento de la esperanza de vida de la población y a la carencia de tratamientos efectivos para dichas enfermedades. Asimismo, la ineficacia en el tratamiento de enfermedades del SNC se acrecienta por la presencia de la barrera hematoencefálica (BHE) la cual limita el paso de fármacos al cerebro. El concepto inicial de BHE puede definirse como una propiedad funcional de los vasos sanguíneos del SNC, por la que se impide el intercambio libre de iones y moléculas orgánicas entre la sangre y el tejido nervioso. Por tanto, la propiedad de la BHE se basa en la existencia de una permeabilidad muy restringida del endotelio vascular del SNC. Esta barrera se hace patente cuando queremos tratar una patología que afecta al SNC y, tras administrar un tratamiento farmacológico por vía intravenosa, nos encontramos con una ausencia de efecto terapéutico, ya que el fármaco no traspasa dicha barrera. Está constituida por una monocapa de células endoteliales, así como por los pies de los astrocitos, neuronas perivasculares y pericitos. El elemento clave que determina la propiedad barrera son las células endoteliales. Estas poseen una serie de características morfológicas y funcionales que las diferencian de los endotelios del resto de los vasos y que explican el aislamiento sanguíneo del tejido nervioso. En primer lugar, debemos resaltar, en comparación con las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos en el resto del cuerpo, la existencia de un sellado intercelular del endotelio por medio exclusivamente de uniones estrechas (tight junctions), consideradas de mayor complejidad respecto al resto de los epitelios. De este modo, se encuentran estrechamente unidas cerrando herméticamente el espacio intercelular impidiendo cualquier comunicación con el espacio extravascular. Debido a las características que presenta dicha barrera, hace que la mayoría de los fármacos que podrían emplearse en enfermedades del SNC no puedan ser utilizados dada su imposibilidad de acceso al cerebro. Una de las estrategias para hacer disponible el fármaco en el cerebro es la del empleo de un profármaco. Consiste en la administración de un precursor inactivo, el cual sufre una transformación y da lugar a la proteína activa. Esta estrategia es la elegida actualmente para el tratamiento del Parkinson. Se administra levodopa, capaz de atravesar la BHE, para sufrir un proceso de metabolización que dará lugar a la dopamina con el fin de reestablecer los niveles anormalmente bajos presentes en la enfermedad de Parkinson. Supone, en consecuencia, un gran reto, el desarrollo de nuevas estrategias eficaces que permitan la vectorización y liberación de fármacos en el cerebro y, en los últimos años, numerosas investigaciones se han centrado en este objetivo. Una de las estrategias más investigadas, es el empleo de nanopartículas como transportadores de fármacos, en este caso, al SNC. En concreto se han diseñado nanopartículas lipídicas sólidas (SLNP) con materiales capaces de atravesar la BHE. Para evaluar la capacidad de estas SLNP de atravesar la BHE, se ha utilizado un modelo monocultivo de BHE in vitro ensayada cuando se encuentra de forma intacta y cuando se encuentra alterada por un daño inflamatorio como ocurre en este tipo de enfermedades. El modelo consiste en sembrar células endoteliales, cuya principal característica es que son capaces de formar la barrera por sí mismas, en una membrana semipermeable de forma que se simule la parte superior la sangre del interior de los vasos sanguíneos, y en la parte inferior de la membrana, el tejido nervioso. Los resultados obtenidos muestran de forma satisfactoria como las SLNP debido a sus características hidrofóbicas, son capaces de atravesar la barrera formada por las células endoteliales.

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Universidades (FPU18/ 00446).

PARP3 PROMOTES ASTROCYTIC DIFFERENTIATION THROUGH A TIGHT REGULATION OF NOX4-INDUCED ROS AND MTORC2 ACTIVATION

José-Manuel Rodríguez-Vargas, Kathline Martin-Hernandez, Wei Wang, Nicolas Kunath, Rajikala Suganthan, Jean-Christophe Amé, F Javier Oliver, Jing Ye, Magnar Bjørås, Françoise Dantzer

RESUMEN: Parp3 is a member of the Poly(ADP-ribose) polymerase (Parp) family that has been characterized for its functions in strand break repair, chromosomal rearrangements, mitotic segregation and tumor aggressiveness. Yet its physiological implications remain unknown. Here we report a central function of Parp3 in the regulation of redox homeostasis in continuous neurogenesis in mice. We show that the absence of Parp3 provokes Nox4-induced oxidative stress and defective mTorc2 activation leading to inefficient differentiation of post-natal neural stem/progenitor cells to astrocytes. The accumulation of ROS contributes to the decreased activity of mTorc2 as a result of an oxidation-induced and Fbxw7-mediated ubiquitination and degradation of Rictor. In vivo, mTorc2 signaling is compromised in the striatum of naïve post-natal Parp3-deficient mice and 6 h after acute hypoxia-ischemia. These findings reveal a physiological function of Parp3 in the tight regulation of striatal oxidative stress and mTorc2 during astrocytic differentiation and in the acute phase of hypoxia-ischemia

FUERZA MUSCULAR Y CONTROL INHIBITORIO EN ADULTOS MAYORES COGNITIVAMENTE SANOS: ESTUDIO AGUEDA

Alessandro Sclafani, Patricio Solis-Urra, Jose Mora-Gonzalez, Dario Bellon, Beatriz Fernandez-Gamez, Angel Toval, Andrea Coca-Pulido, Marcos Olvera-Rojas, Cristina Molina-Hidalgo, Claudia Costa-Rodriguez, José Pablo Martínez-Barbero, Ismael Carrera-Muñoz, Andres Catena, Kirk I. Erickson, Irene Esteban-Cornejo

RESUMEN: La condición física puede influir en la función cognitiva en adultos mayores, y específicamente en la función ejecutiva. En este estudio, examinamos la asociación de la fuerza muscular con el control inhibitorio en adultos mayores cognitivamente sanos. El presente análisis transversal incluye 59 adultos mayores cognitivamente sanos (65 a 80 años; 64,6% mujeres) del estudio AGUEDA. La fuerza muscular se evaluó utilizando la fuerza de prensión manual, el número de sentadillas y la prueba de curl de bíceps. La fuerza de prensión manual se evaluó con el dinamómetro TKK 5101. La prueba de sentadilla (n° repeticiones) y la prueba de curl de bíceps (n° repeticiones) evaluaron la fuerza muscular del tren inferior y superior, y se realizaron siguiendo el protocolo de la batería senior fitness test. El control inhibitorio se evaluó mediante la prueba de Stroop con dos condiciones experimentales (congruente e incongruente). El tiempo de reacción (en segundos), la precisión de respuesta (en porcentaje) y el ratio precisión/tiempo de reacción se calcularon para condiciones congruentes e incongruentes por separado. Se utilizaron modelos de regresión lineal para examinar las asociaciones de cada variable de fuerza muscular con los indicadores de control inhibitorio en cada condición, ajustados por edad, sexo y años de educación. Un mejor desempeño en la prueba de curl de bíceps se asoció con una mayor precisión de respuesta en la condición congruente ($\beta=0.271$; $p=0.038$), y mostró una tendencia en la condición incongruente ($\beta=0.236$; $p=0.073$), pero no se asoció con el resto de variables de control inhibitorio (todas $p > 0.05$). La fuerza de presión manual y la prueba de sentadillas no se asociaron con variables de control inhibitorias en ninguna condición (todas $p > 0,05$). En conjunto, estos resultados indican que, en general, la asociación de la fuerza muscular con el control inhibitorio puede ser dependiente de la prueba utilizada. Mientras no se encontró asociación con la fuerza de prensión manual y el n° de sentadilla, se encontró una asociación positiva con la prueba de curl de bíceps. Futuros ensayos controlados aleatorizados deben examinar si los cambios inducidos por el ejercicio en la fuerza muscular mejoran el control inhibitorio en adultos mayores cognitivamente sanos.

NANO PARTÍCULAS DE CHITOSAN COMO TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Soriano, José Simón; Ortega, Elena; Ruiz, M^a Adolfina; Morales, M^a Encarnación

RESUMEN: Las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer representan un problema de gran importancia en el ámbito social, médico y económico, sobre todo, si consideramos que su prevalencia ha experimentado un fuerte incremento en los últimos años. El clorhidrato de berberina es un alcaloide de isoquinolina que presenta un gran potencial terapéutico para el tratamiento de esta patología. Sin embargo, presenta baja biodisponibilidad oral y penetración limitada en el cerebro. De ahí que el objetivo fundamental de este trabajo se centre en el diseño y síntesis de nanopartículas de chitosan cargadas con clorhidrato de berberina capaces de alcanzar el sistema nervioso central tras su administración nasal. Para el trabajo, la síntesis de las nanopartículas se llevó a cabo mediante un método de gelificación iónica, basado en la técnica propuesta por Fazil et al. utilizando tripolifosfato de sodio (TPP) como agente reticulante. Tras obtener las nanopartículas, se realizaron diferentes ensayos con la intención de caracterizar tamaño, carga eléctrica superficial, estabilidad a diferentes pH y fuerza iónica, mucoadhesión y eficiencia de encapsulación. Las modificaciones realizadas en el método de síntesis en relación a la concentración de polímero utilizada y su proporción respecto al agente reticulante, han dado lugar a un incremento en el rendimiento de síntesis y una mejora en las características superficiales de las nanopartículas obtenidas. Las partículas obtenidas presentan un tamaño en torno a los 200-250nm, con carga positiva y con un valor de potencial zeta de 25-30mV. La eficiencia de encapsulación del clorhidrato de berberina es del 80% y la mucoadhesión de mucina estuvo en torno al 40%. En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que las modificaciones llevadas a cabo en el método de síntesis han dado lugar a nanopartículas de tamaño y carga superficial adecuadas de acuerdo con la finalidad terapéutica para la que están diseñadas. Además, tanto el porcentaje de encapsulación de clorhidrato de berberina como la capacidad de mucoadhesión de los sistemas son elevados.

RELACIÓN ENTRE LA CAPACIDAD CARDIORRESPIRATORIA Y LA MEMORIA DE TRABAJO DURANTE EL ENVEJECIMIENTO. UN ESTUDIO TRANSVERSAL DEL PROYECTO AGUEDA

Angel Toval, Patricio Solis-Urra, Jose Mora-Gonzalez, Beatriz Fernandez-Gamez, Dario Bellon, Marcos Olvera-Rojas, Andrea Coca-Pulido, Alessandro Sclafani, Cristina Molina-Hidalgo, Carlos de Teresa, Eva M. Triviño-Ibañez, Kirk I. Erickson, Francisco B. Ortega, Irene Esteban-Cornejo

RESUMEN: El envejecimiento está asociado con procesos neurodegenerativos que conllevan un deterioro de diversas funciones cognitivas, entre ellas la pérdida de memoria de trabajo. Aunque la capacidad cardiorrespiratoria es un reconocido marcador de salud a lo largo de la vida, es escasa la evidencia que lo relaciona con la memoria de trabajo durante el envejecimiento. Por este motivo, el objetivo del presente estudio ha sido determinar la relación entre la capacidad cardiorrespiratoria y la memoria de trabajo en adultos mayores cognitivamente sanos. Para ello, se ha llevado a cabo un estudio transversal con 65 adultos mayores cognitivamente sanos (de 65 a 80 años; 64.6% mujeres). Para evaluar la capacidad cardiorrespiratoria se utilizó la prueba de marcha de 6 minutos y la prueba de marcha de 2 kilómetros. La memoria de trabajo fue evaluada mediante la prueba n-back con dos condiciones experimentales (i.e., 1-back y 2-back). El tiempo de reacción (seg), el porcentaje de aciertos (%) y la ratio aciertos / tiempo de reacción, fue calculada para cada condición. Se llevaron a cabo análisis de regresión lineal utilizando las variables de capacidad cardiorrespiratoria como predictores y las variables de la prueba n-back como variables de respuesta. Los análisis fueron ajustados por sexo, edad y nivel educativo. La prueba de marcha de 6 minutos se asoció positivamente con el porcentaje de aciertos ($\beta=0.38$, $P=0.004$) y con la ratio aciertos / tiempo de reacción ($\beta=0.352$, $P=0.007$) en la condición 2-back, que es la tarea de memoria de trabajo más exigente cognitivamente. La prueba de 2 km se asoció con el porcentaje de aciertos en la condición 2-back, con una significación límite ($\beta=-0.231$, $P=0.067$). No se encontraron asociaciones entre la capacidad cardiorrespiratoria y la condición 1-back (todos ellos $P>0.05$). Los resultados del presente trabajo indican que la capacidad cardiorrespiratoria está asociada con el rendimiento de memoria de trabajo en una tarea con mayor demanda cognitiva en adultos mayores cognitivamente sanos. Futuros estudios son necesarios para determinar los mecanismos neurales causales que expliquen esta asociación positiva.

EL PAPEL DEL CONTEXTO Y LA COGNICIÓN EN EL CONSUMO LA PREFERENCIA POR SOLUCIONES DULCES EN RATAS

Valero, M; Gallo, M; Garcia-Burgos, D.

RESUMEN: Las cogniciones parecen tener un papel importante en el desarrollo y el mantenimiento de patrones alimentarios anormales y restrictivos. Sin embargo, y hasta donde sabemos, no existen modelos animales que aborden experimentalmente los mecanismos por los que los pensamientos pueden promover la disminución del consumo de ciertos alimentos. Así, los presentes experimentos tratan de llenar este vacío explorando cambios en el consumo y preferencia por soluciones dulces azucaradas sin que los animales hayan experimentado directamente un malestar gastrointestinal. Por tanto, el objetivo que se plantea es estudiar el papel mediador de representaciones mentales “aversivas” en ratas Wistar adultas, tanto machos como hembras. En el Experimento 1 utilizamos un protocolo similar al condicionamiento de segundo orden ($n=32$) en el que a lo largo de dos ciclos repetidos emparejamos la ingestión de una solución de sacarosa (10%) con un contexto aversivo previamente asociado al malestar visceral producido por rotación corporal. Los animales pertenecientes al grupo control bebieron la solución de sacarosa en un contexto neutro sin experimentar dicha rotación. Los resultados mostraron un consumo significativamente menor de la solución azucarada en el grupo experimental en comparación con el grupo control durante los dos ciclos consecutivos. En el Experimento 2 realizamos una aversión mediada ($n=32$). Los animales bebieron la solución azucarada en un contexto inicialmente neutro que posteriormente se asoció con la rotación corporal durante seis sesiones diarias. Encontramos resultados semejantes a los encontrados en el Experimento 1, excepto que en este caso fueron sólo evidentes durante el primer ciclo. Por lo demás, en ambos experimentos, la tasa de preferencia por la sacarosa consumida en la jaula hogar fue significativamente superior a 0.50 en ambos grupos, lo que se traduce en una preferencia por este sabor. Estos resultados apoyan el papel de las cogniciones desagradables en la modulación de la expresión de la conducta ingestiva en el caso de sustancias dulces, y destacan el potencial valor traslacional de este modelo para el desarrollo de modelos animales de trastornos alimentarios.

Financiado por PSI2017-86381-P (MINECO, España); PID2020-114269GB-I00 (MICIU, España) y Marie Skłodowska-Curie N° 754446 - Athenea3i; y el grupo de investigación CTS-1003 (Universidad de Granada, España).

DIFERENCIAS EN CONSUMO DE ALCOHOL TIPO BINGE EN RATAS MACHO ADULTAS Y ADOLESCENTES

Ana Vázquez-Ágredos, Leandro Ruiz-Leyva, Ignacio Morón, Cruz Miguel Cendán y Milagros Gallo

RESUMEN: A pesar de las graves consecuencias negativas que tiene, el consumo alcohol está ampliamente extendido en la sociedad, siendo una de las formas más comunes de ingesta el consumo en forma de binge, esto es, un consumo de altas cantidades de alcohol en menos de dos horas. Aunque este patrón de consumo se da tanto en adultos como en jóvenes, tiene una mayor prevalencia en adolescentes donde el 32,4% afirma haberlo practicado en el último mes. Por ello, resulta de especial interés disponer de modelos animales que imiten este tipo de consumo para el estudio de los efectos que éste puede tener en la salud de los adolescentes. Investigaciones previas de nuestro grupo de investigación encontraron que exponer a ratas adultas a una gran cantidad de comida azucarada en condiciones de privación, inducía la ingesta posterior de alcohol en forma de binge. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comprobar si esta ingesta de alcohol se producía también en animales adolescentes y si existían diferencias con las ratas adultas. Para ello, se utilizaron 40 ratas Wistar macho adolescentes (PND 28) y 74 adultas (PND 84) privados a un 82-85% del peso días antes del experimento. Durante los siguientes 10 días los animales tuvieron acceso durante 3 minutos a: bien una alta cantidad de comida azucarada (72 pellets para adultas; 36 para adolescentes) o bien una baja cantidad de comida azucarada (6 pellets para adultas; 1 para adolescentes). Tras esto, se les presentó un test de doble botella durante 90 minutos con una solución de alcohol al 10% y otra botella de agua. Mientras que los resultados de las ratas adultas mostraron diferencias significativas en consumo de alcohol a partir del tercer día de exposición a la comida, las ratas adolescentes no mostraron estas diferencias hasta el día 9. En este modelo, los animales adolescentes parecen tardar más en consumir grandes cantidades de alcohol, pudiendo deberse al "síndrome de deficiencia de reforzamiento" característico de esta etapa. Además, se encontraron dificultades asociadas a la privación de comida en los animales adolescentes.

Financiado por PID-114269GB-100 (MICINN, Spain), PND-2020-049 (DGPNSD. MSCBS, Spain); FPU18/05012 (MIU, Spain) and B-CTS-422-UGR18 (FEDER, Junta de Andalucía).

PÓSTERS

1. Estudio de las diferencias en la respuesta radiobiológica en BNCT entre células tumorales y sanas
2. Efecto de diferentes regímenes quimioterápicos para el tratamiento de cáncer de páncreas sobre las células madre tumorales
3. Análisis molecular de ARID2 en leucemia linfoblástica aguda. Búsqueda de un modelo celular
4. Nuevos modelos 3D de cáncer de páncreas: La importancia del microambiente tumoral
5. Estrone, but not estradiol, potentiates NF-kB-driven inflammation, EMT and stemness in ER+ epithelial cells
6. Actividad antitumoral del selenito sódico solo y en combinación con gemcitabina en cáncer de páncreas
7. Desarrollo de un método de alta resolución para la identificación de inhibidores proteína-proteína a partir de extractos de origen microbiano
8. Evaluación del efecto de la melatonina en el metabolismo tumoral en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
9. Evaluación de los efectos de la melatonina sobre los diferentes componentes de la cadena de transporte electrónico y fosforilación oxidativa en células HNSCC
10. Extractos funcionales de semillas de plantas ecuatorianas: propiedades antioxidantes y antitumorales y aplicación en el tratamiento cáncer de colon
11. Relación de letalidad sintética entre ARID1A y ARID1B como posible sistema de regulación génica y tratamiento en cáncer
12. Caracterización y validación de un modelo ARID1A/ARID1B doble knockout para investigación oncológica
13. Tripsinógeno y Quimotripsinógeno: potentes agentes anti-tumorales
14. Evaluación de la actividad antitumoral y antiinflamatoria de compuestos organosulfurados derivados de la cebolla (*Allium cepa*) en líneas tumorales de colon
15. Efecto inmunomodulador inmediato del tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas sobre los monocitos de pacientes con malignidad hematológica
16. Análisis de la expresión de puntos de control inmunitarios en líneas celulares de sarcoma óseo
17. Eficacia de un protocolo de terapia manual en la calidad del sueño en supervivientes de cáncer de cabeza y cuello
18. Efecto en las células madre cancerosas de fármacos repositionados basados en la inhibición de NDRG1 para el tratamiento de cáncer de mama triple negativo
19. Descubrimiento de fármacos a partir de extractos microbianos de productos naturales: miniaturización y automatización
20. Estudio y validación experimental de alteraciones en ARNs no codificantes en cáncer
21. Estudio de diferentes formulaciones de melatonina para aumentar la biodisponibilidad de la melatonina en el tumor in vivo
22. Extractos de semillas de *Euphorbia Lathyris*: actividad en cáncer colorrectal
23. El papel de la dieta, el alcohol, la obesidad y la actividad física en la mortalidad por cáncer: evidencias aportadas por el Estudio Prospectivo Europeo sobre Nutrición y Cáncer
24. Estudio del estrés oxidativo e inflamación en pacientes con Síndrome Mielodisplásico
25. Efecto citotóxico del ácido ascórbico en líneas de páncreas: implicación de PARP1 en us capacidad de generación de estrés oxidativo
26. Remodelación de la cromatina y leucemia aguda mieloide
27. *Anemonia sulcata* y su simbionte *Symbiodinium*: actividad en el cáncer colorrectal
28. Papel de los metabolitos secundarios de los hongos marinos *Emericellopsis maritima* y *Purpureocillium lilacinum* en el efecto antitumoral y antioxidante en cáncer de colon
29. Captación de azufre para aplicaciones antitumorales
30. La Endotelina-1 como intermediaria de la inducción del fenotipo stem mediado por la Hemo Oxigenasa-1 en el cáncer colorrectal: papel de p53
31. Regulación de la polarización de macrófagos mediada por la proteasa extracelular ADAMTSl
32. Búsqueda de Biomarcadores de calidad de muestras de tejido incluidas en parafina: Proyecto OPTIMARK
33. Testing the inhibition of Akt pathway to enhance desmosomal PKP1 protein involved in tumor suppression
34. La melatonina induce la resincronización circadiana de *Bmal1* y *Sirt1* en células tumorales de cáncer de cabeza y cuello.
35. Tumor microenvironment as the new target in cancer

ESTUDIO DE LAS DIFERENCIAS EN LA RESPUESTA RADIOBIOLÓGICA EN BNCT ENTRE CÉLULAS TUMORALES Y SANAS

Álvarez-Rodríguez P, Porrás-Quesada M, Pedrosa-Rivera M, Ruiz-Magaña MJ, Ruiz-Ruiz MC, Porrás I

RESUMEN: En los últimos años, la BNCT (terapia mediante captura de neutrones por boro) ha experimentado un creciente interés en el campo de la oncología. Esta técnica se basa en el uso de neutrones de baja energía para irradiar un tejido tumoral, previamente enriquecido con boro-10, un isótopo diana que al interactuar con los neutrones genera una reacción nuclear de alta energía que daña el tejido tumoral sin afectar al tejido sano adyacente. Numerosos estudios han demostrado que esta terapia ofrece resultados muy prometedores en el tratamiento de tumores de mal pronóstico como es el caso del melanoma y el glioblastoma [1]. Uno de los objetivos principales de este estudio es ajustar la dosis de radiación de manera más efectiva y obtener mejores resultados en el tratamiento de estos pacientes. La dosis final administrada a un paciente resulta de la suma de varias dosis independientes que dependen del tipo de radiación empleada y las características del tejido irradiado. En el caso de la BNCT, los dos factores que contribuyen a la dosis final vienen dados por la interacción de los neutrones con distintos componentes celulares y con el boro administrado y acumulado previamente en el tumor [2]. El conocimiento del efecto de estos factores tanto juntos como por separado nos va a permitir conocer y seleccionar la dosis de radiación óptima según el tipo de tumor que se esté tratando. Para llevar a cabo este estudio se ha trabajado con líneas celulares de melanoma (A375) y glioblastoma (A172), como modelos de líneas tumorales, y con CCD1064Sk (fibroblastos humanos de piel), como modelo de células sanas comparable con la línea A375. Estas líneas han sido irradiadas con neutrones de baja energía a distintos tiempos en presencia y ausencia de BPA (un compuesto borado de amplio uso en BNCT). Estos experimentos se han llevado a cabo en el Institut Laue-Langevin (ILL, Grenoble) donde disponen de una línea de neutrones sin contaminación de otro tipo de partículas que puedan influir en la dosis administrada. Por último, para evaluar el efecto de estas irradiaciones en las células tratadas y no tratadas con BPA, se ha estudiado la supervivencia de cada línea mediante ensayos de clonogenicidad. En cuanto a los resultados obtenidos, en la línea A172 se ha podido observar que la presencia de BPA en las células irradiadas potencia el efecto de la irradiación con neutrones a tiempos muy cortos (1-7 minutos), ya que hay una reducción significativa de la supervivencia celular, a diferencia de las células irradiadas en ausencia de BPA, donde se observa que a tiempos largos de irradiación (30-70 minutos), la supervivencia celular se ve disminuida pero no tanto como en las células tratadas con BPA. Por otro lado, si se comparan las irradiaciones sin BPA de las líneas A375 y CCD1064Sk, se observa que a un mismo tiempo de irradiación hay mayor capacidad de supervivencia en la línea sana. Cuando se añade BPA a los cultivos y se irradian, el estudio de la supervivencia mediante el ensayo clonogénico indica que el porcentaje disminuye en ambas líneas celulares, pero existen diferencias en la respuesta de las tumorales frente a las sanas, ya que en estas últimas se observa que hay un menor número de células afectadas por la irradiación. Estos estudios permitirán adquirir un mayor conocimiento de los distintos factores implicados en la dosis final necesaria para tratar este tipo de tumores. Debido a la heterogeneidad de los tejidos, en el futuro sería necesario extender el estudio a un mayor número de líneas celulares para mejorar la planificación de los tratamientos con BNCT a otros tipos de tumores.

[1] Pedrosa-Rivera M et al. Thermal neutron relative biological effectiveness factors for Boron Neutron Capture Therapy from In Vitro irradiations. *Cells*. 9, 2144 (2020). [2] Pedrosa-Rivera M et al. Radiobiology data of melanoma cells after low-energy neutron irradiation and boron compound administration. *Applied Radiation and Isotopes*. 163 (2020).

EFFECTO DE DIFERENTES REGÍMENES QUIMIOTERÁPICOS PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER DE PÁNCREAS SOBRE LAS CÉLULAS MADRE TUMORALES

María Ángeles Chico, Kevin Doello González, Francisco J Quiñonero, Gloria Perazzoli, Lidia Gago, Cristina Mesas

RESUMEN: El cáncer de páncreas, el noveno en frecuencia y el cuarto en tasa de mortalidad, es uno de los tipos de tumores más quimiorresistentes y de mayor agresividad. Su diagnóstico, en la mayoría de los casos, se realiza en estadios muy avanzados de la enfermedad (III y IV) dado la falta de biomarcadores específicos, por lo que presenta un muy pobre pronóstico. En estas etapas, su tratamiento se basa en la administración de diferentes asociaciones de agentes quimioterápicos (Gemcitabina-Abiraterone o FOLFIRINOX (5-fluorouracilo (5-FU) + irinotecán (CPT11) + oxaliplatino (OXA)), a pesar de lo cual presenta una muy baja supervivencia (promedio de 10 meses). En el caso de tumores resecables, la tasa de recaída de 3 años es de alrededor del 40% en pacientes tratados con regímenes de quimioterapia adyuvante como FOLFIRINOX y del 50% en aquellos tratados exclusivamente con gemcitabina (GMZ). Uno de los factores fundamentales que media la resistencia y las recidivas de estos tumores es el comportamiento de las células madre tumorales (CSCs) ante los regímenes terapéuticos actuales por lo que son de gran interés en oncología. El objetivo de este estudio fue analizar in vitro la capacidad citotóxica y antitumoral de los diferentes regímenes quimioterápicos empleados para el tratamiento del cáncer de páncreas, así como la modulación que estos producen sobre la expresión de los marcadores específicos de las CSCs. La metodología utilizada para analizar el efecto de los diferentes tratamientos quimioterápicos usados en clínica fue un modelo experimental basado en cultivos celulares de la línea de adenocarcinoma pancreático humana PANC-1. Las células fueron expuestas a diferentes tratamientos tanto en monoterapia (GMZ, ABRAX, 5-FU, OXA y CPT-11) como en terapia combinada (GMZ-ABRAX, FOLFOX y FOLFIRI), con diferentes concentraciones y tiempos. La proliferación celular fue analizada mediante la tinción de sulforrodamina B por espectrofotometría. Se llevó a cabo aislamiento de CSCs. Las células fueron analizadas para determinar la modulación de marcadores específicos (CD133, CD24, CD44, SOX2 y OCT4) mediante RT-qPCR lo que permitió determinar la subpoblación seleccionada por los quimioterápicos. Se realizaron estudios estadísticos para determinar la significatividad. Los resultados demostraron un gran porcentaje de CSCs después de los regímenes de monoterapia con OXA y GMZ que sugieren que ambos tratamientos podrían favorecer la presencia de CSCs y la recidiva tumoral. Por el contrario, los regímenes FOLFOX y FOLFIRI se asociaron con un porcentaje más bajo de CSCs. Además, GMZ seleccionó principalmente CSCs positivas para CD133, CD24, SOX2 y OCT4 mientras que los tratamientos con OXA favorecieron la expresión de CD44, un marcador relacionado con la resistencia al tratamiento, y con CPT-11 la de SOX2. Los regímenes combinados como GMZ-ABRAX seleccionaron CSCs positivas para CD133 y CD24 mientras que FOLFIRI disminuyó las CSCs positivas con ambos marcadores, lo que puede ser relevante dada la relación entre CD133 y el avance y mal pronóstico del cáncer de páncreas. Por tanto, podemos concluir que el régimen terapéutico usado en cáncer de páncreas modula la presencia y crecimiento de CSCs con marcadores específicos que pueden estar relacionados en el pronóstico y la evolución de la enfermedad. Estos resultados podrían ser claves para llevar a cabo una terapia personalizada en el tratamiento cáncer de páncreas, así como disminuir su recurrencia. Serán necesarios estudios in vivo para corroborar la evidencia extraída de este estudio.

ANÁLISIS MOLECULAR DE ARID2 EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA. BÚSQUEDA DE UN MODELO CELULAR

Beatriz de la Puente Cobacho, Daniel Jesús García, Juan Rodrigo Patiño Mercau, Marta Cuadros Celorrio, Pedro Medina Vico García, Juan Rodrigo

RESUMEN: Mutaciones en genes codificantes del complejo remodelador de cromatina SWI/SNF se han identificado en el 20% de todos los tumores. Este complejo controla el posicionamiento de los nucleosomas en la cromatina, regulando así la expresión génica. En concreto, se han descrito mutaciones en la subunidad ARID2 en diversos tumores sólidos, sin embargo, a pesar de conocerse su papel en la hematopoyesis, apenas se ha caracterizado su papel en neoplasias hematológicas. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en edad pediátrica caracterizada por una gran heterogeneidad clínica y molecular. En una cohorte pública de LLA-B pediátrica se identificaron mutaciones intrónicas en ARID2, y los análisis de supervivencia mostraron una correlación entre la expresión baja de ARID2 y tiempos de supervivencia menores. El presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar el papel de ARID2 en LLA-B. Para ello se analizaron los niveles de expresión génica y de proteína de ARID2 en un panel de 22 líneas celulares hematológicas. Para ello se llevó a cabo el cultivo de las líneas celulares, análisis de ARN por qRT-PCR y de proteína por Western blot. Se realizó un análisis *in silico* de los datos de metilación de ARID2 mediante las bases de datos DepMap Portal y Methbank. Además, para analizar el estado de metilación de ARID2 se realizó un tratamiento con un fármaco demetilante (decitabina). Los niveles de expresión de ARNm y proteína de ARID2 en las líneas celulares analizadas fueron heterogéneos. Por su baja expresión de ARID2 destacan las líneas celulares Raji, Ramos, REH, NB4 y SD-1; y por su alta expresión Daudi, Jurkat, MHH-PREB-1, Namalwa, JY, Karpas 1106, MOLT 4 y RS4;11. Asimismo, se observó una baja cantidad de la proteína en JY, SD-1, Karpas 1106 y u937. Se seleccionó la línea SD-1, derivada de una LLA-B, por la baja expresión de ARID2, tanto a nivel de ARNm y de proteína. Se observó experimentalmente mediante el tratamiento con decitabina que la expresión del ARNm de ARID2 aumentaba, lo que podría estar indicando un silenciamiento génico por hipermetilación en las regiones reguladoras del gen. No obstante, la cantidad de proteína parecía disminuir respecto a la expresión relativa de ARID2, pudiendo explicarse por mecanismos postranscripcionales. De este trabajo se puede concluir que la expresión de ARID2 a nivel proteico y de ARNm, es heterogénea en el panel de líneas celulares de leucemia analizados. Siendo seleccionada SD-1 por expresar poco ARID2. Además, el tratamiento con decitabina en SD-1 y el incremento de su expresión sugiere la hipermetilación de la región promotora como uno de los mecanismos de inactivación de ARID2 en SD-1.

NUEVOS MODELOS 3D DE CÁNCER DE PÁNCREAS: LA IMPORTANCIA DEL MICROAMBIENTE TUMORAL

Laura de Lara-Peña, Julia López de Andrés, Carmen Griñán-Lison, Jesús Ruiz-Espigares, María Tristán-Manzano, Pedro Justicia-Lirio, Francisco Martín, Gema Jiménez and Juan Antonio Marchal*.*

RESUMEN: El cáncer de páncreas (PC) representa la séptima causa principal de muerte por cáncer en el mundo y su incidencia cada año va en aumento. La supervivencia en este tipo de tumores es inferior al 5% debido a la falta de diagnóstico precoz, la rápida progresión de la enfermedad, la alta tasa de metástasis y el fracaso del tratamiento. En el desarrollo del PC y su farmacorresistencia juegan un papel fundamental las subpoblaciones de células madre cancerígenas (CSC) y el microambiente tumoral (TME). Este TME es altamente complejo y supone más de un 90% de la masa tumoral, albergando diversos tipos celulares, como células estrelladas pancreáticas (PSC), células madre mesenquimales (MSC), fibroblastos asociados al tumor (CAF), células endoteliales y células inmunitarias. Las nuevas técnicas de bioimpresión 3D han supuesto un gran avance, puesto que posibilitan la generación de modelos tumorales complejos, dotados de una disposición espacial específica que permite reproducir con precisión el entorno tumoral. Por todo ello, es fundamental generar nuevos modelos tumorales 3D bioimpresos de PC que incluyan un TME que se asemeje al del tejido nativo, ya que de él dependen en gran medida el desarrollo tumoral y de metástasis y la respuesta a los tratamientos. Estos modelos 3D in vitro de PC nos permitirían comprender la resistencia a las terapias y evaluar su eficiencia como modelos para cribado farmacológico y de tratamiento personalizado.

ESTRONE, BUT NOT ESTRADIOL, POTENTIATES NF- κ B-DRIVEN INFLAMMATION, EMT AND STEMNESS IN ER+ EPITHELIAL CELLS

Díaz-Ruano AB (1), Martínez-Alarcon N (1), García Martínez MA (2), Preda O (2), Ramírez-Tortosa C (2), Cortijo-Gutiérrez M (3), González-Hernández A (1,3), San Jose-Capilla V (1), Pujol-Cordoba M (1), Benabdellah K (3), Marchal JA (1,4,5), Picon-Ruiz M (1,4,5)

1. Biopathology and Medicine Regenerative Institute (IBIMER), University of Granada, Spain 2. Department of Pathological Anatomy, University Hospital San Cecilio, Granada, Spain 3. Department of Genomic Medicine, GENYO, Centre for Genomics and Oncological Research, Pfizer-University of Granada (Andalusian Regional Government), Spain 4. Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research (CIBM), University of Granada, Granada, Spain; Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, Spain; 5. Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain; Excellence Research Unit "Modeling Nature" (MNat), University of Granada, Granada, Spain.

RESUMEN: Obesity is a risk factor for the development of several cancer types. However, its association with estrogen receptor positive (ER+) cancer risk is clearly dependent on the menopausal status in women, being greater after menopause. It is known that NF- κ B activation in the obese adipose tissue drives tumorigenesis; and that estradiol (E2), the main serum estrogen before menopause, inhibits the NF- κ B pathway. However, little is known about the role of estrone (E1), the principal estrogen after menopause and whose levels increase with obesity, in NF- κ B regulation and tumorigenesis. Here we tested the roles of E1 and E2 on inflammation and estrogen-dependent tumorigenesis. We found that E1, contrary to E2, is pro-inflammatory, induces EMT and increases ES-TF expression in ER+ HeLa cells. Moreover, changes on intratumoral expression levels of several members of the enzyme family HSD17B that cause an increase in E1 levels are poor prognosis factor for ovarian cancer patients. This work demonstrates a different role of E1 and E2 on inflammation and tumorigenesis. This newfangled study highlights the key role of E1 on ER+ cancer development and progression, and open a new research field. Our results have important clinical implications, supporting the design of new hormone replacement therapies to reduce E1 levels and ER+ cancer incidence after menopause, and demonstrate the prognostic and therapeutic value of oxidative HSD17B enzymes.

ACTIVIDAD ANTITUMORAL DEL SELENITO SÓDICO SOLO Y EN COMBINACIÓN CON GEMCITABINA EN CÁNCER DE PÁNCREAS

Kevin Doello, Cristina Mesas, Francisco Quiñonero, Gloria Perazzoli, Laura Cabeza, José Prados, Conso-lación Melguizo, Raúl Ortiz

RESUMEN: El selenito sódico, una oxo-sal inorgánica usada como fuente de selenio para la síntesis de selenoproteínas, se convierte, a dosis altas, en un agente tóxico selectivo para las células tumorales. Esta citotoxicidad es causada por el propio selenito, un anión extremadamente reactivo que causa depleción del glutatión y la tioredoxina reducidos, dejando a la célula desprovista de mecanismos de defensa frente al estrés oxidativo. Por otro lado, el cáncer de páncreas es el noveno más frecuente y el cuarto más letal. Una de las principales causas de su alta mortalidad es la baja respuesta al tratamiento (quimioterapia) presentando una supervivencia del 20% al año y del 7% a los cinco años en estadio metastásico, lo que hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. El objetivo de este estudio es demostrar la capacidad antitumoral in vitro e in vivo del selenito sódico, así como el carácter quimio-sensibilizador del mismo cuando se emplea junto a la gemcitabina (GMZ), principal agente antitumoral usado para tratar el cáncer de páncreas. La metodología utilizada para determinar el efecto citotóxico del selenito sódico, solo y en combinación con GMZ en el cáncer de páncreas, se basó en el uso de las líneas celulares PANC-1 y Pan02 derivadas de adenocarcinoma pancreático (estudios in vitro) que fueron expuestas a selenito y selenito +GMZ tanto en cultivo en monocapa como tras la generación de esferoides multicelulares (MTS). Los estudios in vivo se realizaron mediante la generación de tumores en ratones C57BL tras la inoculación subcutánea de la línea Pan02. Además, estudios de ciclo celular, potencial de membrana mitocondrial y PCR fueron realizados para dilucidar los mecanismos moleculares por los que actúa el selenito sódico. Finalmente, se valoró en efecto del tratamiento en cáncer stem cells (CSCs) derivadas de las líneas tumorales. Los resultados obtenidos mostraron una inhibición significativa de la viabilidad de las células del cáncer de páncreas con el uso del selenito de sodio solo (IC50 de 5.6 y 4.6 en la línea PANC-1 y Pan02, respectivamente) y un efecto sinérgico cuando se asocia con GMZ. El efecto antitumoral del selenito de sodio solo implicó el factor inductor de apoptosis (AIF) y la expresión de fosfo-p38 en la terapia combinada. Además, el selenito de sodio solo y en asociación con GMZ disminuyó significativamente la capacidad de migración y la capacidad de formación de colonias, redujo la viabilidad tumoral en esferoides tumorales multicelulares (MTS) y disminuyó la formación de esferas de CSCs. Así, se observó una reducción de hasta un 50% en las CSCs derivadas de la línea PANC-1 tratadas con la combinación de selenito + GMZ). Los estudios in vivo demostraron que la terapia combinada inhibe el crecimiento tumoral (65%) en comparación con el grupo no tratado y también en relación con el selenito de sodio o GMZ utilizados como monoterapia (hasta un 40%), aumentando la supervivencia de los ratones. Estos resultados fueron respaldados por el análisis de ratones albinos C57BL/6 portadores de un tumor generado por Pan02, utilizando el sistema IVIS. En conclusión, el selenito de sodio es un potencial agente para la mejora en el tratamiento del cáncer de páncreas y podría considerarse para futuros ensayos clínicos en humanos.

Doello, K. Cancers (Basel) . 2021 Jun 25;13(13):3169. doi: 10.3390/cancers13133169

DESARROLLO DE UN MÉTODO DE ALTA RESOLUCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE INHIBIDORES PROTEÍNA-PROTEÍNA A PARTIR DE EXTRACTOS DE ORIGEN MICROBIANO

Elisabeth Domingo, Francisco Castillo, J. Rubén Tormo, Carmen Ramos y Francisca Vicente

RESUMEN: Hasta ahora, la mayoría de los esfuerzos de cribado masivo de dianas inmuno-oncológicas han explorado un espacio químico limitado que comprende colecciones de anticuerpos y pequeñas moléculas sintéticas, ignorando así la inmensa diversidad estructural de los productos naturales. Este hueco es aún más notable al aplicar técnicas de cribado de alto rendimiento basadas en la búsqueda de inhibidores proteína-proteína. De hecho, los métodos clásicos de interacción proteína-proteína (PPI) sólo han conseguido realizar cribados de resolución óptima cuando se analizan compuestos puros y muestras homogéneas, relegando hasta ahora a los productos naturales fuera de los cribados PPI debido a la alta tasa de falsos positivos y falsos negativos inducida por una matriz del extracto tan compleja como heterogénea espectroscópicamente. El trabajo presentado aquí se fundamenta en mejorar las tecnologías PPI para que sean compatibles con productos naturales de origen microbiano. Concretamente hemos desarrollado una plataforma de cribado de fluorescencia homogénea en tiempo resuelto (HTRF), eficaz contra extractos y fracciones de 1000 cepas, que cumple con los estándares de calidad más exigentes del formato HTS. Acoplamos a esta plataforma PPI las capacidades analíticas que nos proporciona la espectrometría de masas alta resolución (HRMS) demostrando que podemos detectar y validar de forma ortogonal el primer inhibidor en su clase procedente de un extracto microbiano. Este prometedor resultado nos ha abierto las puertas a realizar un cribado robusto y a gran escala de la colección completa de MEDINA, una de las librerías con mayor biodiversidad química del mundo (190.000 cepas microbianas, 200.000 extractos y fracciones).

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MELATONINA EN EL METABOLISMO TUMORAL EN CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEZA Y CUELLO

Fábrega-Puentes A; López-Rodríguez A; Florido J; Martínez-Ruiz L; Rodríguez-Santana C; Medina Martínez AJ; Oliver Ramírez A; Escames G

RESUMEN: El cáncer de cabeza y cuello afecta a la cavidad oral, labios, faringe y laringe. Presenta la séptima tasa de incidencia a nivel mundial. Se caracteriza por ser muy metastásico y con mortalidad es muy elevada. En la actualidad los tratamientos empleados están basados en la quimioterapia, radioterapia y cirugía. Sin embargo, las recidivas son muy frecuentes, por lo la investigación de nuevos tratamientos es imprescindible. Las células tumorales precisan de una gran aporte energético para mantener un metabolismo muy alto. Una de las vías que emplean este tipo de células para poder obtener la energía es una reprogramación metabólica mediante la inhibición de OXPHOS, para la obtención de ATP a través de la glucólisis de forma más rápida. Esta conversión metabólica permite utilizar la mitocondria como diana terapéutica para nuevos fármacos. La melatonina actúa a este nivel inhibiendo la reprogramación metabólica y, en consecuencia, activando los procesos de muerte celular. El objetivo de este estudio es la evaluación del efecto de la melatonina en el metabolismo tumoral en carcinoma de células escamosas (HNSCC) de cabeza y cuello. Se utilizaron células HNSCC Cal-27 tratadas con vehículo (CNT) o con melatonina 500 μM (aMT500) o 1000 μM (aMT1000). Se analizaron diferentes parámetros mitocondriales. Mediante Western Blot se cuantificó la expresión de las proteínas de los complejos mitocondriales de la cadena de transporte de electrones (ETC) y fosforilación oxidativa (OXPHOS). Empleando técnicas espectrofotométricas, se midió la cinética de la actividad de los complejos mitocondriales. Con el oxígrafo Oroboros se midió el consumo de oxígeno utilizando diferentes substratos mitocondriales: Glutamato/Malato (G/M), o succinato. Además, se utilizó el oxígrafo SeaHorse, como técnica complementaria a los resultados de respiración obtenidos por el Oroboros. Se midieron los niveles de ATP mediante ensayos de fluorimetría, ROS mediante mitosox y mitotracker, y apoptosis mediante el kit de anexina por citometría de flujo. Los resultados demuestran que, tras 24 horas de tratamiento con melatonina, se produce un aumento de la expresión y la actividad de los complejos CI, CII y CIV, mientras que no hubo cambios en el CIII y CV (ATP sintasa) a melatonina 1000 μM . También aumenta el CIV a aMT500. Al cabo de 48 horas, con aMT 1000, la actividad de los complejos CI y CIV no cambian, mientras que hay una disminución de dicha actividad en el CII y CV. Los parámetros de respiración mitocondrial no presentan variación con ningún tratamiento. Los niveles de ATP disminuyen al aumentar la concentración de aMT, mientras que los niveles de ROS y apoptosis aumentan. Por tanto, la melatonina, en dosis altas, aumenta la actividad y la expresión de los complejos I, II y IV, pero no se acompaña de un cambio en la producción de ATP. Sin embargo, hay un aumento de ROS y, en consecuencia, de apoptosis.

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LOS DIFERENTES COMPONENTES DE LA CADENA DE TRANSPORTE ELECTRÓNICO Y FOSFORILACIÓN OXIDATIVA EN CÉLULAS HNSCC

Javier Florido; César Rodríguez-Santana; Laura Martínez-Ruiz; Alba López-Rodríguez; Alejandro Fábrega-Puentes; Alberto Jesús Medina Martínez; Ana Guerra-Librero; Germaine Escames.

RESUMEN: El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) es el sexto cáncer más común en todo el mundo, con más de 500.000 casos nuevos cada año. A pesar de los continuos avances en cirugía, radioterapia y quimioterapia, la tasa de supervivencia a los 5 años aún se mantiene por debajo del 50%. Por este motivo, sigue siendo necesario investigar nuevas dianas terapéuticas, así como nuevos tratamientos que mejoren los ya existentes. En este sentido, la melatonina, debido a sus efectos oncostáticos ampliamente demostrados, se plantea como una nueva estrategia para aumentar la eficacia de los tratamientos oncostáticos actuales. Sin embargo, aunque se conoce que su orgánulo diana es la mitocondria, el mecanismo de acción por el cual la melatonina ejerce su efecto oncostático sigue sin conocerse. En este estudio, nuestro objetivo es investigar si el efecto oncostático de la melatonina esta mediado a nivel mitocondrial. Utilizamos las líneas celulares HNSCC (Cal-27 y SCC-9), que se trataron con melatonina a 500 y 1000 μ M durante 48 horas. Para analizar el efecto de la melatonina en la mitocondria, las células se trataron con diferentes inhibidores de los complejos de la cadena de transporte electrónica (ETC) rotenona (inhibidor del complejo I); malonato y TTFA (inhibidores del complejo II); KCN (inhibidor del complejo IV). También se utilizaron desacoplantes como el FCCP. Se midieron los siguientes parámetros: niveles de CoQ mediante UPLC, potencial de membrana mitocondrial, masa mitocondrial, proliferación celular, producción de ROS y apoptosis. Los resultados obtenidos indicaban que la melatonina podría estar actuando, en las células tumorales, aumentando el transporte reverso de electrones (RET). En base a ello, desarrollamos una línea celular Cal-27 que expresa la oxidasa alternativa (inhibidor del RET). Nuestros resultados demuestran que los efectos de la melatonina en las células tumorales se deben a un aumento en la producción de ROS mitocondrial a través del RET, lo que conduce a la apertura del poro de transición mitocondrial y a la apoptosis en las células HNSCC. Este estudio revela nuevos mecanismos moleculares para el tratamiento del cáncer.

EXTRACTOS FUNCIONALES DE SEMILLAS DE PLANTAS ECUATORIANAS: PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y ANTITUMORALES Y APLICACIÓN EN EL TRATAMIENTO CÁNCER DE COLON

Marco Fuel, Cristina Mesas, Rosario Martínez, Raul Ortiz, Francisco Quiñonero, José Prados, Jesús M Porres, Consolación Melguizo

RESUMEN: El cáncer colorrectal constituye uno de los tumores más comunes en todo el mundo, representando la tercera causa de muerte por cáncer en varones y la segunda en mujeres. Si bien las terapias actuales han permitido mejorar la supervivencia, en estadios metastásicos se tiene un mal pronóstico, por lo que se precisan de nuevas estrategias terapéuticas. Por su parte las especies *Moringa oleifera*, *Tropaeolum tuberosum* y *Annona cherimola* han sido empleadas tradicionalmente en Ecuador. Sin embargo, sus propiedades terapéuticas no se conocen completamente. En este trabajo se llevaron a cabo extractos etanólicos de semillas de *M. oleifera*, *A. cherimola* y tubérculos de *T. tuberosum*. Para evaluar la actividad antioxidante se determinó el contenido total de polifenoles mediante la metodología Folin-Ciocalteu y se realizó el ensayo de ABTS. Además se empleó un modelo celular para evaluar la capacidad antioxidante in vitro en la línea de adenocarcinoma de colon HT-29. Para los ensayos de actividad antiproliferativa se emplearon las líneas de cáncer de colon T84, HCT-15, SW480 y CCD18 y un modelo de esferoides tumorales multicelulares de HCT15, en donde se evaluó el efecto de los extractos solos y en combinación con el agente quimioterapéutico 5-Fu. Finalmente se evaluó su efecto quimiopreventivo al evaluar la inducción de las enzimas detoxificantes glutatión s-transferasa (GST) y quinona oxidoreductasa (QR) en un modelo in vitro en la línea HT-29. Los extractos etanólicos presentaron propiedades antioxidantes destacando el extracto de *A. cherimola* por su mayor contenido de polifenoles (27.7 µg de GAE/mg de extracto) y resultados en el ensayo in vitro. El efecto antiproliferativo se evidenció en todos los extractos de manera dependiente de la dosis destacándose el extracto etanólico de *A. cherimola* por mostrar el CI más bajo (50 valores en células T84 (23.2 ± 2.75 µg/ml), mientras que el extracto de *M. oleifera* mostró el CI más bajo (50 valores en celdas HCT-15 (24.6 ± 2.16 µg/ml) y SW480 (19.8 ± 2.68 µg/ml). En relación al efecto combinado con el 5-FU, se observó un efecto sinérgico en comparación con la monoterapia (IC < 1). Este sinergismo fue más evidente para todas las valoraciones del extracto etanólico de *A. cherimola* combinado con 5-FU (IC < 1). Además, el 5-FU (2 µM) combinado con extractos etanólicos de *A. cherimola*, *M. oleifera* y *T. tuberosum* a 2,5, 5 y 10 µg/mL, respectivamente produjo el mayor efecto sinérgico, con una inhibición cercana al 50% (IC < 1). Finalmente, con respecto a la actividad detoxificante los extractos fueron capaces de inducir la actividad de las enzimas GST y QR en mayor magnitud en comparación con el control positivo (sulforafano) destacándose el extracto de *M. oleifera* GST (2,34 ± 0,02) y QR (1,73 ± 0,02). En conclusión, los extractos etanólicos de las semillas *M. oleifera*, *A. cherimola* y tubérculos de *T. tuberosum* son excelentes candidatos para continuar con estudios de análisis de compuestos bioactivos y podrían convertirse en nuevas opciones terapéuticas, ya sea solos o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos para la prevención y tratamiento del cáncer colorrectal.

RELACIÓN DE LETALIDAD SINTÉTICA ENTRE ARID1A Y ARID1B COMO POSIBLE SISTEMA DE REGULACIÓN GÉNICA Y TRATAMIENTO EN CÁNCER

Galera Martínez, Cayetano Jesús; Rodríguez Lara, María Isabel; Medina Vico, Pedro Pablo

RESUMEN: Diversas mutaciones de genes relativos a subunidades del complejo remodelador de cromatina SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable) han sido asociadas con un gran número de cánceres gracias a las nuevas técnicas de secuenciación masiva. Este complejo emplea la energía de hidrólisis del ATP para modificar la estructura de la cromatina y participar en la regulación de la expresión génica. En concreto, el gen que codifica para la subunidad ARID1A se encuentra mutado con una mayor frecuencia en tumores humanos como cáncer de endometrio, ovárico o pulmonar entre otros. Esta subunidad de interacción con el ADN se asocia principalmente con un papel supresor tumoral aunque este no está del todo caracterizado y depende de la localización tisular. Asimismo, se ha descrito una relación de letalidad sintética ante la ausencia total de expresión de ARID1A y su gen parálogo, ARID1B. Este codifica para una subunidad mutuamente exclusiva con ARID1A del complejo SWI/SNF. Por ello, se ha propuesto a ARID1B como posible diana terapéutica para el tratamiento de tumores con mutaciones deletéreas de ARID1A. No obstante, las rutas metabólicas y proliferativas alteradas e implicadas en esta relación de letalidad sintética han sido poco estudiadas. Así, este estudio se enfoca en el papel de ARID1A y ARID1B en el proceso de letalidad sintética y su relación con distintos procesos metabólicos. Para ello, se han validado por qRT-PCR una serie de genes seleccionados a partir de un previo RNA-seq en fibroblastos embrionarios de ratón (MEFs). Los datos obtenidos muestran una posible implicación letal del metabolismo de los ácidos grasos y de agentes tóxicos mediado por el receptor α del proliferador activado de peroxisomas (PPAR α) en Arid1a/Arid1b DKO. Además, esta validación junto con los resultados obtenidos por Western Blot en MEFs muestran cierta tendencia a muerte celular por apoptosis mientras que el nivel de la mayoría de marcadores de proliferación celular permanece inalterado en Arid1a/Arid1b DKO. Por esto, destaca la necesidad de profundizar en el estudio de la relación de letalidad sintética entre estas subunidades no solo para la obtención de un mayor entendimiento en cuanto al proceso de remodelación de la cromatina a cargo del complejo SWI/SNF; sino también, para el desarrollo de potenciales dianas terapéuticas para el tratamiento del conjunto de cánceres mutados para ARID1A, teniendo en cuenta las diferencias entre cada uno de ellos, siempre en un contexto de progresión hacia una medicina más avanzada y personalizada.

CARACTERIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN MODELO ARID1A/ARID1B DOBLE KNOCK-OUT PARA INVESTIGACIÓN ONCOLÓGICA

Gómez Silva, JM.; Rodríguez Lara, MI.; y Medina, PP.

RESUMEN: Los complejos remodeladores de la cromatina son estructuras capaces de regular la expresión génica a través de cambios en la conformación de la cromatina. Entre ellos destaca el complejo SWI/SNF (SWI/SNF/Sucrose Non Fermentable) con un papel en la regulación en la diferenciación, la adhesión y el ciclo celular, la reparación de ADN y la supresión tumoral. Mutaciones en sus subunidades se han relacionado con cáncer y otras enfermedades, entre las que destacan las subunidades de unión al ADN ARID1A y ARID1B. ARID1A parece ser un importante supresor tumoral, mientras que ARID1B es especialmente relevante en el desarrollo de neuropatías, en las que se incluye el Síndrome de Coffin-Siris. Recientemente, se ha podido observar que además actúa como oncogén en algunos tipos de cáncer. Se ha estudiado que la doble inactivación de ARID1A y ARID1B impide la viabilidad celular, y que existe dependencia de ARID1B en tumores ARID1A-deficientes. Por lo tanto, ARID1B podría ser una diana terapéutica en este tipo de tumores. Para ello, en primer lugar, debemos saber cuáles son las consecuencias de la pérdida de ambas subunidades de manera simultánea. En este trabajo hemos caracterizado y validado un modelo doble knockout condicional para ARID1A y ARID1B en fibroblastos embrionarios de ratón (MEFs). Para ello, hemos medido cambios en la viabilidad, proliferación y migración celular cuando ambos genes eran delecionados de manera condicional mediante diferentes ensayos. La deleción condicional de ARID1A y ARID1B se obtenía mediante el uso de una recombinasa Cre inducible por tamoxifeno. Los resultados muestran como la ausencia de ARID1A y ARID1B provoca un fuerte impedimento tanto en la viabilidad como en la proliferación y migración celular, por lo que, en resumen, hemos visto que la eliminación condicional de ARID1A/B es letal a nivel celular. Así pues, experimentos futuros con el uso de este modelo nos ayudarán a estudiar con más detalle el fenotipo y los efectos que supone la inactivación de estos genes en la función celular, así como sus mecanismos subyacentes, lo cual podría tener aplicaciones en la investigación oncológica básica y aplicada.

TRIPSINÓGENO Y QUIMOTRIPSINÓGENO: POTENTES AGENTES ANTI-TUMORALES

Aitor González-Titos, Pablo Hernández-Camarero, María Belén Toledo Cutillas, Shivan Barungi, Juan Antonio Marchal, Julian Kenyon y Macarena Perán

RESUMEN: El tripsinógeno y el quimotripsinógeno son dos (pro)enzimas pancreáticas implicadas en la digestión de los alimentos. Recientemente, nuevas pruebas han apoyado el potencial antitumoral de una mezcla de tripsinógeno y quimotripsinógeno. En esta revisión abarcamos los estudios que aportaron pruebas de los efectos de las (pro)enzimas pancreáticas sobre las células tumorales tanto in vitro como in vivo y algunas aplicaciones clínicas exitosas de las (pro)enzimas pancreáticas. Por último, estudiamos las posibles dianas moleculares de las (pro)enzimas pancreáticas, como los receptores activados por proteasas (PAR). Esta novedosa terapia ha demostrado tener efectos antitumorales eficaces. El tratamiento con estas (pro)enzimas sensibiliza a las Células Madre Cancerígenas (CSC), lo que puede permitir que la quimioterapia y la radioterapia sean más eficaces, lo que podría afectar positivamente a la recuperación de los pacientes con cáncer.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTITUMORAL Y ANTIINFLAMATORIA DE COMPUESTOS ORGANOSULFURADOS DERIVADOS DE LA CEBOLLA (ALLIUM CEPA) EN LÍNEAS TUMORALES DE COLON

Enrique Guillamón, Nuria Mut-Salud, Alberto Baños

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los tipos de cáncer más comúnmente diagnosticados en los países occidentales. Diferentes estudios han puesto de manifiesto que la inflamación está presente de forma crónica y anormal en este tipo de cáncer, de modo que los pacientes con enfermedades inflamatorias tienen un mayor riesgo de desarrollar esta patología. Por otro lado, algunos factores como la obesidad, el consumo excesivo de grasas y/o alimentos altamente procesados predisponen el desarrollo de esta enfermedad. El estudio de principios activos de origen natural con actividad inmunomoduladora y antitumoral supone una novedosa línea de investigación para el desarrollo de fármacos o alimentos funcionales que permitan tratar o reducir el riesgo de padecer esta enfermedad. El presente trabajo ha tenido como objetivo evaluar la actividad antitumoral y antiinflamatoria de dos compuestos organosulfurados presentes en la cebolla, el propil propano tiosulfinato (PTS) y el propil propano tiosulfonato (PTSO). Ambos compuestos han sido descritos por sus propiedades antibacterianas y como moduladores del microbioma intestinal [1][2]. La actividad inmunomoduladora se evaluó en líneas de carcinoma de colon humano HT-29 y T-84 mediante la determinación de citocinas proinflamatorias IL-1 β e IL-8 y antiinflamatorias IL-4 e IL-10 en sobrenadantes de cultivo por la técnica ELISA. Los resultados demostraron una capacidad significativa de PTSO y PTS para reducir los niveles de citocinas proinflamatorias e incrementar las antiinflamatorias. Por otro lado, la actividad antiproliferativa fue evaluada en las mismas líneas celulares mediante el método de tinción con sulforrodamina B. La inducción con PTS mostró mayor capacidad antitumoral con valores de Concentración Inhibitoria 50 (CI50) inferiores a 20 μ M en ambas líneas. Además, tanto PTS como PTSO resultaron inocuos para células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), con valores de CI50 superiores a 200 μ M, obteniéndose óptimos índices terapéuticos para ambos compuestos. A falta de posteriores estudios que profundicen en el mecanismo de acción y eficacia en modelos de experimentación animal, estos resultados evidencian el efecto antiinflamatorio y antitumoral de PTS y PTSO in vitro. Dada su baja toxicidad, estos compuestos podrían formar parte de alimentos o complementos que ayuden a prevenir o tratar el CCR.

[1] Sorlozano-Puerto A, Albertuz M, Lopez-Machado I, Gil-Martinez L, Ariza JJ, Maroto-Tello A, Baños A, Gutierrez J. 2021. Antibacterial and Antifungal Activity of Propyl-Propane-Thiosulfinate and Propyl-Propane-Thiosulfonate, Two Organosulfur Compounds from *Allium cepa*: In Vitro Antimicrobial Effect via the Gas Phase. *Pharmaceuticals* (Basel). 2020 Dec 29;14(1):21. [2] Guillamón, E.; Andreo-Martínez, P.; Mut-Salud, N.; Fonollá, J.; Baños, A. Beneficial Effects of Organosulfur Compounds from *Allium cepa* on Gut Health: A Systematic Review. *Foods* 2021, 10, 1680

EFFECTO INMUNOMODULADOR INMEDIATO DEL TRATAMIENTO CON INMUNOGLOBULINAS INTRAVENOSAS SOBRE LOS MONOCITOS DE PACIENTES CON MALIGNIDAD HEMATOLÓGICA

C. Jiménez-García, N. Subhi-Issa, K. Guevara-Hoyer, E. Anguita, J. Ochoa Grullón, C. Perez Lopez, C. Benavente, A. Domínguez-Soto, B. Iñigo, E. Bolaños, A.L. Corbí, S. Sánchez-Ramón

RESUMEN: La inmunodeficiencia secundaria (IDS) es una complicación frecuente en pacientes que padecen malignidad hematológica B (MH), ya sea debido a la propia malignidad o a su tratamiento. La IDS se caracteriza principalmente por un déficit de producción de anticuerpos manifestada clínicamente como un aumento de infecciones recurrentes y graves, afectando especialmente al tracto respiratorio. Para prevenir el defecto humoral se utiliza la terapia de reemplazo con inmunoglobulinas (TRIg), que además de prevenir infecciones, tiene efectos inmunomoduladores en la patología aún no bien definidos en pacientes con MH. En este trabajo se estudiaron 11 pacientes con MH para valorar efecto in vivo de TRIg sobre las subpoblaciones de monocitos en sangre periférica. Para ello se ha evaluado el perfil mielóide en 11 pacientes con MH (4 pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC) y 7 pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH)) en la primera dosis de TRIg antes de comenzar el tratamiento (pre-TRIg) y otra post-TRIg. Las subpoblaciones de monocitos y células supresoras derivadas de la serie mielóide (CSDM) se caracterizaron en base a la expresión de distintos marcadores de superficie mediante citometría de flujo multiparamétrica. En nuestra cohorte de pacientes se observó tras la TRIg una reducción significativa de las subpoblaciones de monocitos intermedios (CD14 + CD16 +) (11,37% a 6,18% p=0,009) y no clásicos (CD14 lo/- CD16 +) (4,69% a 1,25% p<0,001), con el consecuente aumento de los monocitos clásicos (CD14 + CD16 -) (80,62% a 89,41% p<0,001) en comparación con los niveles basales pre-TRIg. Además, se ha observado un aumento significativo de CSDM (CD14 + HLA-DR lo/-) (31,10% a 48,30% p=0,035) tras post-TRIg. En conclusión, la TRIg disminuyó significativamente las poblaciones de monocitos de perfil proinflamatorio y expandió subpoblaciones inmunosupresoras a corto plazo. Los resultados preliminares sugieren que la TRIg favorece la migración de los monocitos de sangre periférica y la egrésión de precursores de la médula ósea como posible mecanismo compensatorio. La relevancia de estos resultados reside en la capacidad del tratamiento para modular la migración de los monocitos y la futura polarización de los macrófagos en el contexto de la MH.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE PUNTOS DE CONTROL INMUNITARIOS EN LÍNEAS CELULARES DE SARCOMA ÓSEO

Laura López-Escánez, Laura Hidalgo-García, Francisco Perea, Alba Rodríguez-Nogales, María Elena Rodríguez-Cabezas, Julio Gálvez y Per Anderson

RESUMEN: Los sarcomas óseos son un grupo heterogéneo de neoplasias malignas con mal pronóstico que representan un 0,2% de los cánceres diagnosticados y tienen una gran incidencia en menores de 20 años. Su rareza, heterogeneidad y resistencia a los tratamientos, que apenas han conseguido una mejoría significativa en la última década, hacen necesario desarrollar terapias más eficaces. Recientemente, los inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICIs) frente a PD-1, PD-L1 y CTLA-4 han supuesto un gran avance en el tratamiento de muchos cánceres, pero no en el sarcoma, donde su eficacia es baja. Teniendo en cuenta lo anterior, se realizó un estudio que consistió en analizar dos factores que determinan la eficacia de la inmunoterapia con ICIs: la expresión de HLA clase I (HLA-I) y de nuevos ligandos de puntos de control inmunitarios (L-ICs) poco estudiados en sarcoma. Para ello, se caracterizó la expresión basal y estimulada con IFN- γ de HLA-I, PD-L1, CD112, CD155, B7-H3, HVEM, HLA-II, Gal-3, Gal-9 y FGL1 en 4 líneas celulares de sarcoma óseo establecidas (osteosarcoma: G292, SAOS-2 y sarcoma de Ewing: RD-ES, A673), empleando citometría de flujo y ensayos in vitro. Los resultados muestran una expresión basal de HLA-I en todas las líneas, excepto en G292, aunque se induce con IFN- γ . Además, la expresión de PD-L1 fue baja, pero inducible mediante IFN- γ en SAOS-2 y A673. Todas las líneas celulares expresaron L-ICs y se encontró que IFN- γ modulaba la expresión de CD155, HLA-II, Gal-9 y FGL1 en algunas de las líneas, aunque no en todas. En general, la expresión de los nuevos L-ICs fue variable, pero la expresión de B7-H3, HLA-II, Gal-9 y FGL1 parece ser diferente entre las líneas celulares de osteosarcoma y sarcoma de Ewing. También se analizó la capacidad de las células de sarcoma para influir en la proliferación de células T in vitro y se halló que todas las líneas, a excepción de SAOS-2, podían inhibirla. Estos datos sugieren que la expresión de nuevos L-ICs pueden explicar en parte la baja respuesta a la terapia anti-PD-1/PD-L1 en sarcomas, así como que estos ligandos tienen una expresión heterogénea, por lo que es importante la implementación de una medicina personalizada.

EFICACIA DE UN PROTOCOLO DE TERAPIA MANUAL EN LA CALIDAD DEL SUEÑO EN SUPERVIVIENTES DE CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO

María Dolores López-Fernández, María Fernández-González, Paula Postigo-Martín, Ángela González-Santos, María López-Garzón, Miguel Ángel Fernández-Gualda, Lucía Ortiz-Comino

RESUMEN: Cada año más de medio millón de personas son diagnosticadas de cáncer de cabeza y cuello (CCC), un grupo heterogéneo de cánceres que incluye los localizados en la cavidad oral, orofaringe y laringe. Su tratamiento consta de una combinación entre cirugía, radioterapia y quimioterapia, y entre los síntomas más prevalentes se encuentra la alteración del sueño antes, durante y después del tratamiento. Las alteraciones del sueño se han asociado con el consumo de alcohol y tabaco, y pueden persistir durante años tras finalizar el tratamiento quimioterápico, lo que convierte a la mala calidad del sueño en una condición incapacitante, ya que conduce a una disminución de la calidad de vida y puede ser una posible causa de comorbilidad. Por lo tanto, se hace necesario un abordaje de este síntoma a fin de evitar un deterioro de la calidad de vida en estos pacientes. El objetivo de este estudio es conocer la eficacia de un tratamiento de terapia manual (TM) en la calidad del sueño de supervivientes de CCC. Para ello se realizó un ensayo clínico controlado y aleatorizado en el que se reclutaron supervivientes de CCC que cumplieron los criterios de elegibilidad establecidos y se asignaron de forma aleatoria a un grupo placebo (GC) y a un grupo experimental (GE). Se evaluó la calidad del sueño a través del Índice de Calidad del Sueño de Pittsburgh (PSQI) pre y post-intervención. La intervención consistió en 18 sesiones de TM durante 6 semanas. El PSQI valora la calidad del sueño e informa sobre diferentes aspectos del mismo: calidad subjetiva, latencia, eficiencia, alteraciones, uso de medicación para dormir y disfunción diurna, los cuales se puntúan del 0 al 3, donde 0 es ninguna disfunción y 3 es problemas graves. La puntuación total dará un máximo de 21 puntos, considerándose los sujetos como “buenos dormidores” cuando es ≤ 5 , y como “malos dormidores” cuando es ≥ 5 . Finalmente, con el software SPSS v.27, se hizo un análisis descriptivo de las variables sociodemográficas y una t-student para determinar si hay una mejora estadísticamente significativa de la calidad del sueño tras aplicar TM. La muestra total fue de 26 sujetos, el GC (n= 13) presentó una edad media de 58.02 ± 13.61 años, con un 84.6% de hombres, mientras que en el GE (n= 13) la edad media fue de 59.54 ± 11.03 años, con un 61.5% de hombres. El tiempo desde el diagnóstico fue de 23.08 ± 13.96 meses en el GC respecto a los 28.77 ± 13.84 meses del GE. Tras la intervención, el GE mostró una mejora de la calidad del sueño total significativamente estadística en comparación con el GC (GE pre: 8.00 ± 3.24 vs GE post: 6.08 ± 3.4 ; GC pre: 8.23 ± 2.95 vs GC post: 8.31 ± 2.96 , $p = 0.030$). De todos los componentes del PSQI, la TM solo mostró un efecto estadísticamente significativo sobre la disfunción diurna, que mejoró en el GE respecto al GC (GE pre: 1.00 ± 0.91 vs GE post: 0.46 ± 0.66 ; GC pre: 0.77 ± 0.72 vs GC post: 0.92 ± 0.95 , $p = 0.024$). En conclusión, la TM mejora la calidad del sueño y el componente de disfunción diurna en supervivientes de CCC, mientras que éstas empeoraron en el grupo que no recibió la intervención.

EFFECTO EN LAS CÉLULAS MADRE CANCEROSAS DE FÁRMACOS REPOSICIONADOS BASADOS EN LA INHIBICIÓN DE NDRG1 PARA EL TRATAMIENTO DE CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

Araceli López-Tejada, Ana Sánchez Jiménez, José Lucas Blaya-Cánovas, Carmen Griñan-Lison, Jesús Calahorra, Alba Navarro-Ocón, Francisca E. Cara-Lupiañez, Juan Antonio Marchal, Sergio Grana-dos-Principal

RESUMEN: El agresivo cáncer de mama triple negativo (TNBC, del inglés Triple Negative Breast Cancer) se caracteriza por altas tasas de recidivas y baja supervivencia, y actualmente no existen terapias dirigidas. En estudios anteriores, hemos demostrado que el supresor tumoral NDRG1 exhibe propiedades pro-oncogénicas en células de TNBC dirigidas por la señalización de TFG β . Con el objetivo de proponer nuevos avances terapéuticos y reducir los costes y el tiempo para el desarrollo de nuevos fármacos, se realizó el reposicionamiento de fármacos utilizando la herramienta Connectivity Map con los datos de secuenciación de ARN tras la inhibición de NDRG1 en células MDA-MB-231 que habían sido estimuladas con TFG β . En este estudio, seleccionamos tres fármacos, a saber, efavirenz (E), ouabaína (O) y vinburnina (V), para analizar su actividad (tanto en monoterapia como sus combinaciones) en la proliferación celular mediante la determinación de los valores de IC50 con el ensayo de WST. Además, se evaluó su efecto sobre las células madre cancerosas (CSC, del inglés Cancer Stem Cell) mediante el ensayo de eficiencia de formación de mamosferas (MSFE, mammosphere-forming efficiency) para determinar la autorrenovación, así como el número de células ALDH1+ por citometría de flujo, en dos líneas celulares de TNBC: MDA-MB-231 y BT549. Nuestros resultados demostraron que la IC50 para cada fármaco era 15 μ M (E), 54nM (O) y 1 μ M (V), en células MDA-MB-231, y 1,6 μ M (E), 23nM (O) y 5,6 μ M (V), en células BT549. Asimismo, todos los regímenes de tratamiento redujeron la población ALDH1+ en MDA-MB-231. Resultados similares se encontraron en BT549, aunque V produjo un aumento en las células ALDH1+. Notablemente, E+O fue la combinación más efectiva en ambas líneas celulares. La autorrenovación, dada por la MSFE secundaria, fue disminuida por todos los tratamientos en MDA-MB-231. En la línea celular BT549, solo las combinaciones redujeron significativamente la autorrenovación. Destacamos que E+O y O+V parecen ser las mejores combinaciones. En conclusión, el presente estudio demuestra que E, O, B y sus combinaciones redujeron la proliferación de células TNBC y sugiere su posible objetivo frente a las CSC.

DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS A PARTIR DE EXTRACTOS MICROBIANOS DE PRODUCTOS NATURALES: MINIATURIZACIÓN Y AUTOMATIZACIÓN

Thomas A. Mackenzie, José Rubén Tormo, Isabel Sánchez, Francisco Castillo, Fernando Reyes, Olga Genilloud, Carmen Ramos

Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Avda del Conocimiento, 34. 18016 Granada, Spain.

RESUMEN: Los extractos microbianos de Productos Naturales (NPs) representan un enorme recurso para la generación de nueva diversidad química con aplicaciones potenciales como agentes terapéuticos. Fundación MEDINA posee una de las librerías de NPs microbianos más grandes y diversas del mundo con más de 190.000 cepas y 200.000 extractos, que se ha empleado en varias campañas de screening buscando moléculas con actividad anti-infectiva, antitumoral y antiparasitaria. Hasta hace poco, la tecnología de transferencia de muestras mediante "acoustic droplet ejection" (ADE) del equipo Echo® 550 de Labcyte™ (ahora Beckman) se había demostrado efectiva reduciendo volúmenes de reactivos y costes al aplicarla sobre colecciones de compuestos puros y homogéneos. El primer gran reto que surgió fue el diseño de protocolos de dispensación para los extractos microbianos tanto de origen bacteriano como fúngico, sobre lo que se estuvo trabajando junto con el equipo de Labcyte™. Los extractos microbianos están preparados al 20% DMSO y tienen diferentes características de viscosidad por su propia naturaleza, lo que dificulta su dispensación. Una vez optimizados estos protocolos, fueron testados internamente con diversos ensayos enzimáticos y fenotípicos, tanto en bacterias como en líneas celulares cancerígenas. Con esta herramienta correctamente funcionando, decidimos usar el Echo® 550 para realizar un cribado de alto rendimiento (High-Throughput Screening, HTS) con el objetivo de validar estos nuevos protocolos utilizando dos diferentes dianas: i) testando la citotoxicidad/especificidad de un conjunto de 6.880 extractos fúngicos de la librería de NPs de Fundación MEDINA y ii) buscando promotores de la translocación nuclear de FOXO3a; ambas dianas englobadas en la búsqueda de anti-tumorales. El primer cribado se basó en un ensayo fenotípico de citotoxicidad, utilizando el test de MTT para cuantificar la muerte celular de 5 líneas cancerígenas humanas: MCF7 (ATCC HTB-22™, cáncer de mama), A2058 (ATCC CRL-11147™, melanoma), HepG2 (ATCC HB-8065™, hepatoma), MIA PaCa-2 (ATCC CRL-1420™, cáncer pancreático) and A549 (ATCC CCL-185™, cáncer pulmonar); utilizando placas de 384 pocillos y realizando tratamientos directos mediante el Echo®, con lo que se pudo dispensar volúmenes de nanolitros de los extractos microbianos. Se obtuvieron parámetros de calidad de cribado, como son el Z-factor y la ventana de ensayo, muy buenos para todas las líneas celulares ensayadas, validando así la robustez de la metodología empleada. Los resultados obtenidos revelan 416 extractos altamente citotóxicos (6%) contra todas las líneas y 180 extractos selectivos (2.6%), que sólo presentaban actividad frente a una o dos líneas, usando un corte de la actividad mayor al 70%. Posteriormente, ambos extractos seleccionados se incluyeron en un cherry-picking automatizado con el Echo® 550 para confirmar la actividad, obteniendo resultados prometedores. Los próximos pasos para seguir incluirían confirmar los extractos seleccionados en curvas de dosis-respuesta en las 5 líneas celulares mencionadas anteriormente para elegir las más potentes e iniciar un fraccionamiento bio-guiado acoplado a LC-MS para identificar las moléculas causantes de la actividad. Las moléculas altamente citotóxicas podrían usarse para desarrollar conjugados anticuerpo-fármaco (ADCs), fármacos bio-farmacéuticos diseñados como terapia dirigida para el tratamiento de diversos cánceres y, las moléculas con actividad selectiva podrían ser buenos candidatos a fármacos antitumorales específicos. Por otro lado, se ha podido miniaturizar y automatizar con éxito un ensayo de High-Content Screening (HCS) que estudia por bio-imágenes la translocación nuclear de FOXO3a, expresado en la línea celular U2OS (ATCC HTB-96™, osteosarcoma) y cuyo cribado está en proceso con resultados preliminares muy interesantes.

ESTUDIO Y VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DE ALTERACIONES EN ARNS NO CODIFICANTES EN CÁNCER

Pablo Martín López, Alvaro Andrades Delgado, Alberto Manuel Arenas Molina, Marta Eugenia Cuadros Celorrio, Pedro Pablo Medina Vico.

RESUMEN: El cáncer es la principal causa de mortalidad en la mayoría de los países desarrollados y se estima que su incidencia va a seguir incrementándose en las próximas décadas. Dentro de los distintos tipos de cáncer existentes, el cáncer de pulmón fue el tumor con mayor mortalidad y uno de los que presentó una mayor incidencia en el año 2020, siendo el adenocarcinoma pulmonar (LUAD) uno de los subtipos más frecuentes. Entre los distintos componentes moleculares que podrían participar en el desarrollo tumoral, encontramos a los ARNs largos no codificantes (ARNlnc). Los ARNlnc son moléculas de ARN que no son traducidas a proteínas y que además presentan una longitud superior a los 200 nucleótidos. Estas moléculas son de gran importancia en la regulación génica a través de distintos mecanismos que dependerán de su localización celular o de su capacidad para interactuar con otras biomoléculas. De esta forma, alteraciones en estas moléculas podrían repercutir de forma negativa en ciertos aspectos de la expresión génica y desencadenar procesos patológicos como el cáncer. En este contexto, de forma previa a este trabajo el grupo de investigación de Regulación de la Expresión Génica y Cáncer del centro GENYO llevó a cabo un ADNseq en el que se analizaron muestras de pacientes con LUAD, tanto de tejido tumoral como de tejido normal adyacente (n=70), y líneas celulares del mismo tipo de cáncer (n=37). Como resultado se identificaron un total de 82 genes de ARNlnc que presentaban posibles mutaciones en LUAD, entre ellos TUSC7. Para este trabajo se validaron las principales mutaciones halladas en el ARNlnc TUSC7. Asimismo, con el objetivo de estudiar en un futuro estas mutaciones se obtuvieron y optimizaron modelos celulares. De las 3 mutaciones validadas, 1 demostró ser una variante germinal (presente en el exón 1) y las 2 restantes mostraron ser mutaciones somáticas (presentes en el exón 4). En relación con los modelos celulares, la línea A549 demostró no ser un modelo adecuado para los experimentos de sobreexpresión, aunque en lo que respecta a los experimentos de inhibición, no se pudo llegar a ninguna conclusión sobre este modelo. Finalmente, la línea H460, portadora de una delección del gen TUSC7, probó ser un modelo de utilidad para los experimentos de sobreexpresión.

ESTUDIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE MELATONINA PARA AUMENTAR LA BIODISPONIBILIDAD DE LA MELATONINA EN EL TUMOR IN VIVO

Martínez-Ruiz, Laura; Florido, Javier; Rodríguez-Santana, César; López-Rodríguez, Alba; Fábrega-Puentes, Alejandro; Oliver-Ramírez, Andrés; Sánchez-Porras, David; Carriel Víctor S., Escames, Germaine.

RESUMEN: El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) presenta un mal pronóstico y una baja tasa de supervivencia. Esto se debe a la resistencia que desarrollan los pacientes a los tratamientos ya existentes y al escaso avance en el desarrollo de nuevas terapias. Además, la mayoría de los pacientes con HNSCC acaban desarrollando metástasis. Por tanto, sigue siendo necesaria la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas que mejoren los tratamientos ya existentes. En este sentido, la melatonina ha demostrado aumentar la eficacia de algunos tratamientos cuando se administra en combinación con ellos. Así, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de diferentes formulaciones de melatonina in vivo en ratones con xenoinjertos de células Cal-27 y SCC-9, una línea celular de HNSCC. Para llevar a cabo este objetivo, se utilizaron ratones nude a los que se le realizaron xenoinjertos de células Cal-27 y SCC-9. Una vez que los ratones desarrollaron los tumores, se trataron con solución vehículo, una solución de melatonina al 3%, cisplatino a 4 mg/kg día o la combinación de cisplatino más melatonina durante 49 días. Para analizar el efecto oncostático de la melatonina, se midió el volumen tumoral durante el tratamiento y, al final del mismo, antes de sacrificar a los ratones, se realizó resonancia magnética nuclear de los ratones. Además, tras sacrificar los ratones, se llevó a cabo un análisis histológico de los mismos (hematoxilina-eosina, picosirius, azul alcian, filagrina, TUNEL y Ki-67) y se estudiaron los niveles de estrés oxidativo (niveles de lipoperoxidación y de proteínas carboxiladas) y de apoptosis (ratio Bax/Bcl-2) en los tumores tras el tratamiento. Los resultados muestran que los ratones tratados con melatonina al 3% administrada por vía intratumoral presentan un menor crecimiento tumoral con respecto a los ratones control. Además, esta disminución del volumen tumoral es mayor en los ratones tratados con la combinación de cisplatino más melatonina. Esto se debe a que altas concentraciones de melatonina disminuyen la proliferación y aumentan la apoptosis de las células tumorales como consecuencia de un incremento de los niveles de estrés oxidativo. Sin embargo, cuando la melatonina se administra por vía intraperitoneal, la melatonina no tiene ningún efecto sobre el tumor. Estos resultados están descritos en la solicitud de patente P201730598 presentada por la Universidad de Granada (30/03/2017). Por tanto y como conclusión, este estudio demuestra que altas concentraciones de melatonina aumentan la producción de ROS, lo que reduce el crecimiento tumoral en ratones con xenoinjertos de células Cal-27, siempre que se alcancen altas concentraciones de melatonina dentro del tumor.

EXTRACTOS DE SEMILLAS DE EUPHORBIA LATHYRIS: ACTIVIDAD EN CÁNCER COLORRECTAL

Cristina Mesas, Rosario Martínez, Raúl Ortíz, Milagros Galisteo, María López-Jurado, Laura Cabeza, Gloria Perazzoli, Consolación Melguizo, Jesús María Porres, Jose Carlos Prados

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) es considerado un problema de salud pública a nivel mundial, siendo el tercer cáncer más prevalente. A pesar de los grandes avances en su detección precoz y en el desarrollo de nuevos tratamientos, su mortalidad es muy elevada siendo necesarios nuevos agentes antitumorales más eficaces o que potencien el efecto de los actualmente utilizados. Los extractos vegetales están mostrando una gran aplicación en salud, incluyendo el tratamiento del cáncer, debido al su alto contenido en compuestos bioactivos. En concreto, el género Euphorbia, uno de los géneros más grandes de plantas con flores, ha despertado gran interés desde la antigüedad debido a la presencia de moléculas con diferentes actividades con actividad antitumoral. El objetivo del estudio ha sido dilucidar el poder antitumoral de extractos funcionales obtenidos a partir de semillas desengrasadas y sin desengrasar de Euphorbia lathyris en líneas celulares de CCR, así como conocer los mecanismos de acción específicos por los que los extractos funcionales inducen muerte celular. La metodología utilizada para caracterizar los extractos funcionales y su actividad incluyó el análisis cromatográfico, la determinación de la actividad antioxidante y la valoración de la actividad antitumoral mediante estudios de proliferación in vitro sobre las líneas T84, HCT-15 y CCD-18. Para determinar los mecanismos de acción moleculares se analizó el ciclo celular mediante la técnica de tinción con yoduro de propidio, la apoptosis mediante Western Blott y el fenómeno de autofagia mediante el ensayo de lysotracker. Además, se realizaron estudios de RT-qPCR para determinar marcadores específicos de células madre tumorales (CSCs), estudios de migración celular para determinar su actividad sobre la invasividad celular, así como ensayo de angiogénesis e inmunofluorescencia para α -tubulina. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto la gran capacidad antitumoral del extracto etanólico obtenido de semillas, (desengrasadas y sin desengrasar) de Euphorbia lathyris en las líneas celulares de CCR, destacando su efecto sobre las líneas T84 y HCT15 (quimiorresistente) en las se produjo una inhibición de la proliferación (IC50) de 16.3 ± 2.54 y 72.9 ± 1.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente. Los estudios de western blot demostraron la activación de la vía intrínseca de la apoptosis con un claro incremento en la expresión de la caspasa 9 (4.6 fold) y la caspasa 3 (1.4 fold). No obstante, el mecanismo predominante fue la activación de la autofagia celular. Además, el extracto etanólico redujo significativamente la migración celular, destacando la reducción en la línea T84 de un 18.68% a las 72h y moduló la angiogénesis tumoral in vitro con una reducción en la formación de vasos sanguíneos por parte de las células HUVEC de hasta un 100%. Finalmente, el extracto produjo significativa reducción de la expresión de los marcadores de células madre CD44, CD24, SOX2, OCT4 y NANOG que sugiere su actividad frente a este tipo celular. En conclusión, los extractos funcionales obtenidos a partir de semilla de Euphorbia lathyris poseen una potente actividad antitumoral frente a CCR y actúa sobre factores implicados en su evolución como son la migración, la angiogénesis y la presencia de células madre, por lo que son de gran interés para futuros ensayos in vivo.

Mesas, C., Martínez, R., Ortíz, R., Galisteo, M., López-Jurado, M., Cabeza, L., Perazzoli, G., Melguizo, C., Porres, J. M., & Prados, J. (2021). Antitumor Effect of the Ethanolic Extract from Seeds of Euphorbia lathyris in Colorectal Cancer. *Nutrients*, 13(2), 566. <https://doi.org/10.3390/nu13020566>

EL PAPEL DE LA DIETA, EL ALCOHOL, LA OBESIDAD Y LA ACTIVIDAD FÍSICA EN LA MORTALIDAD POR CÁNCER: EVIDENCIAS APORTADAS POR EL ESTUDIO PROSPECTIVO EUROPEO SOBRE NUTRICIÓN Y CÁNCER

Molina-Montes E, Ubago-Guisado E, Petrova D, Rodríguez-Barranco M, Soria-Florado MT, Sánchez MJ

RESUMEN: Las tasas de supervivencia de las personas con cáncer han mejorado sustancialmente en las últimas décadas gracias a los programas de cribado, las mejoras en el diagnóstico y a la implantación de tratamientos más precoces. Como resultado, el número de personas que viven habiendo sido diagnosticadas de un cáncer está aumentando. Sin embargo, estas personas tienen un mayor riesgo de desarrollar recidivas, segundos cánceres y de morir por cáncer. La evidencia sobre el impacto de la dieta, el alcohol, el índice de masa corporal (IMC) y la actividad física en la mortalidad por cáncer y en la ocurrencia de recidivas y segundos cánceres sigue siendo escasa. En este estudio se ha revisado la contribución del Estudio Prospectivo Europeo sobre Nutrición y Cáncer (EPIC) al estado actual de la evidencia sobre el papel de estos factores en la mortalidad por cáncer. El estudio EPIC es uno de los estudios de cohortes más grandes del mundo; cuenta con más de 500.000 participantes de 10 países europeos, reclutados entre los años 1992-1996. El objetivo de este estudio es investigar la relación entre la dieta, los estilos de vida y los factores ambientales con el riesgo de desarrollar cáncer y otras enfermedades crónicas. La información que se recoge en el seguimiento de la cohorte sobre ocurrencia de cáncer y mortalidad ha permitido llevar a cabo estudios de asociación entre estos factores con la mortalidad por cáncer. Se han identificado 45 estudios utilizando una metodología de revisión sistemática rápida. Entre los factores dietéticos asociados con una reducción de la mortalidad por cáncer destacan la ingesta de vegetales crudos, la ingesta de fibra dietética, la dieta mediterránea, otros índices de calidad de dieta, patrones de dieta como el de los vegetarianos/veganos o pesco-vegetarianos, la ingesta dietética (o niveles de biomarcadores) de algunas vitaminas (por ejemplo, vitamina D, vitamina K2 o vitamina C), y la ingesta de lignanos. La actividad física y el seguimiento de las recomendaciones de estilo de vida saludable para la prevención del cáncer del Fondo Mundial de Investigación contra el Cáncer (WCRF/AICR) también se han asociado con una disminución del riesgo de mortalidad por cáncer. Por el contrario, los factores dietéticos asociados con un mayor riesgo de mortalidad por cáncer fueron una calidad de la dieta pobre, el consumo de alcohol y refrescos, junto con el de los zumos y, en menor medida, la ingesta de algunos ácidos grasos. El exceso de peso y la obesidad también se asociaron con un aumento del riesgo de mortalidad por cáncer. El estudio EPIC dispone de información exhaustiva sobre factores de dieta y de los estilos de vida, y ofrece una oportunidad única para identificar los factores relacionados con la dieta y los estilos de vida para la disminución de la mortalidad por cáncer.

ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO E INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO

Paola Montes, Ana Guerra-Librero, Paloma García, Elena Cornejo, M^a del Señor López, Tomás de Haro, Laura Martínez-Ruiz, Germaine Escames, Darío Acuña-Castroviejo

RESUMEN: Los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) constituyen un grupo heterogéneo de desórdenes hematológicos clonales que afectan a la célula madre hematopoyética, caracterizados por citopenias, displasia y tendencia variable de progresión a leucemia mieloide aguda. Numerosos estudios han identificado una heterogeneidad de factores implicados en la compleja fisiopatología de la enfermedad. En esta línea, se ha observado que el estrés oxidativo e inflamación juegan un papel importante en el desarrollo de una amplia variedad de neoplasias hematológicas, incluyendo el SMD (2,3). Por ello, nosotros quisimos investigar si alteraciones en el sistema endógeno de defensa antioxidante y/o la presencia de un microambiente pro-inflamatorio pudiesen estar relacionados con la patogénesis de la enfermedad. Así mismo, se evaluó el posible impacto del tratamiento con agentes hipometilantes, como 5-Azacitidina (5-AZA) en el estado redox celular e inflamatorio. El estudio se llevó a cabo en 20 pacientes control y 24 pacientes diagnosticados de SMD primario, a través de la evaluación de diversas moléculas antioxidantes; marcadores de estrés oxidativo extracelular, y las principales enzimas implicadas en la respuesta celular antioxidante. Así mismo, se determinaron los niveles plasmáticos de diversas citoquinas pro-inflamatorias. Nuestros datos revelan cambios que afectan al sistema de defensa antioxidante, con una disminución en el estado redox en pacientes con SMD, que se reflejan en una disminución de la ratio GSSG/GSH y en los niveles de LPO; junto con un aumento en la actividad de la catalasa. Simultáneamente, se destaca la presencia de un microambiente pro-inflamatorio, con un aumento en la concentración de citoquinas IL-2, IL-6 y TNF- α . Finalmente, el tratamiento con 5-AZA reveló un aumento en los niveles de estrés oxidativo, sin afectar a los niveles de inflamación, con un perfil de citoquinas similar al grupo de pacientes no tratados. Como conclusión, destacamos que, la alteración del estado redox y la presencia de un entorno pro-inflamatorio constituyen dos factores implicados en la patogénesis de la enfermedad.

EFFECTO CITOTÓXICO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN LÍNEAS DE PÁNCREAS: IMPLICACIÓN DE PARP1 EN SU CAPACIDAD DE GENERACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO

Alba Ortigosa Palomo, Francisco Quiñonero, Jose Manuel Delgado, Belén Parra-Torrejón, Mari Ángeles Chico, Kevin Doello, Octavio Caba, Raul Ortiz

RESUMEN: El cáncer de páncreas tiene una elevada mortalidad, estimándose que será la segunda causa de muerte por cáncer para 2030. El diagnóstico en estadios avanzados, la metástasis hepática frecuente, las recaídas tempranas tras la cirugía y las terapias dirigidas poco eficaces contribuyen al mal pronóstico de la enfermedad. Las terapias actuales, basadas en la recesión tumoral cuando la enfermedad está localizada, o el uso de diferentes moléculas como Doxorubicina, 5-fluorouracilo, Irinotecán, Abraxane o Gemcitabina no consiguen una mejora en la supervivencia y los tumores desarrollan resistencia a estas. Las células madre tumorales (CSCs) son las principales causantes de esta resistencia y del desarrollo de metástasis. Esto muestra la necesidad de desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. El ácido ascórbico (ASC) es un nutriente esencial para el ser humano y tiene funciones bioquímicas importantes y su actividad anticancerígena ha sido estudiada en múltiples tipos de cáncer, siendo los más investigados la leucemia, cáncer de colon, melanoma, cáncer de páncreas y próstata. A altas concentraciones, el ASC actúa como un agente pro-oxidante debido a que induce un flujo de H₂O₂ y provoca daño en el ADN, lo que genera la hiperactivación de la proteína de reparación del ADN poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1). Esto tiene como efecto en la célula un gran consumo energético provocando su muerte. PARP es inhibida por Olaparib, fármaco aprobado para el tratamiento de cáncer de mama, ovario, próstata, y más recientemente, de páncreas. En este trabajo se analiza (1) el efecto en líneas de cáncer de páncreas (PANC01, PANC02, PANC02L y MiaPaCa2) de la inhibición de PARP1 en la generación de daño mediante estrés oxidativo, comprobando la citotoxicidad con Sulforrodamina B; (2) la citotoxicidad del ASC a altas concentraciones junto con su posible mecanismo de acción mediante estudio por citometría de la despolarización de la membrana mitocondrial y muerte por apoptosis (DiIC-IP-A); y (3) las diferencias de expresión en marcadores de CSCs, transición epitelio-mesénquima y genes de reparación del ADN en células tratadas con ASC, Olaparib, o la combinación de ambos mediante RT-qPCR. Los resultados preliminares muestran una mayor resistencia de las líneas cuando se inhibe PARP1 al ser tratadas con peróxido de hidrógeno, un generador de estrés oxidativo, hipotetizando que esta inhibición de PARP1 impide un desbalance energético en la célula mediante la hiperactivación de esta enzima en su intento de reparar los daños generados. Por otro lado, el ASC a altas concentraciones es tóxico en todas las líneas celulares estudiadas, induciendo en la línea PANC01 despolarización de membrana mitocondrial a una concentración de 90 µM. Mientras, el Olaparib produce muerte por apoptosis y la combinación de ambos desencadena un efecto conjunto. Finalmente, en PANC01 el marcador de stem CD133 sufre una disminución de la expresión con el tratamiento de ASC, pero un aumento con Olaparib y el tratamiento combinado, mientras que el marcador DNMT1 disminuye la expresión con el tratamiento de Olaparib y el tratamiento combinado. Además, dos genes implicados en rutas de reparación de DNA como PARP1 y BRCA1 disminuyen su expresión tanto con el ASC como con el Olaparib. Se concluye que (1) la inhibición de PARP1 provoca resistencia al tratamiento con ASC; (2) el tratamiento con ASC es citotóxico e induce despolarización de membrana, mientras que el Olaparib produce muerte por apoptosis; y (3) se produce una disminución de expresión del marcador de stem CD133 con el tratamiento de ASC y los genes de reparación de daño del ADN, PARP1 y BRCA1, disminuyen su expresión con los diferentes tratamientos empleados.

REMODELACIÓN DE LA CROMATINA Y LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE

Patiño JR, Baliñas C, Álvarez JC, Rodríguez MI, Andrades A, Peinado P, Arenas AM, García DJ, Sanjuán J, Ritoré F, Cuadros M and Medina PP.

RESUMEN: Gracias a los enormes avances en las tecnologías de secuenciación genética, se ha visto que las alteraciones patológicas en los mecanismos epigenéticos constituyen un factor importante que afecta a la modificación de los perfiles de expresión génica. Esto podría conducir al desarrollo de diversas enfermedades, incluyendo el cáncer entre ellas. Entre estos factores epigenéticos se incluyen también los complejos remodeladores de la cromatina. Uno de ellos es el complejo remodelador de la cromatina SWI/SNF, y se ha confirmado que las mutaciones en varias de sus subunidades están claramente implicadas en el desarrollo tumoral. Concretamente, la subunidad BCL7A ha sido menos estudiada que otras subunidades del complejo SWI/SNF, pero recientemente nuestro grupo de investigación ha descrito el papel supresor de tumores de BCL7A en el linfoma difuso de célula B grande (DLBCL). Además, hemos obtenido resultados preliminares estudiando una línea celular de leucemia aguda promielocítica (APL): NB4. Esta línea celular carece de la expresión de BCL7A debido a la hipermetilación a nivel de ADN genómico del promotor de este gen. Por lo tanto, hemos utilizado NB4 como modelo celular para estudiar la posible actividad de supresor tumoral de BCL7A en este contexto de APL. Además, hemos confirmado que el dominio amino-terminal de BCL7A es necesario para su interacción con el complejo SWI/SNF en este contexto de APL, siendo esto un resultado en concordancia con nuestros hallazgos previos en el estudio de DLBCL realizado. En el futuro, se pretenden diseñar experimentos de secuenciación de próxima generación (NGS) para proporcionar más información sobre por qué BCL7A desempeña su función supresora de tumores en estos subtipos de neoplasias hematológicas. Los resultados que se obtengan a lo largo del desarrollo de este proyecto podrían permitir un avance en los sistemas de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los pacientes de estas neoplasias.

ANEMONIA SULCATA Y SU SIMBIONTE SYMBIODINUM: ACTIVIDAD EN EL CÁNCER COLORRECTAL

Mercedes Peña, Rosario Martínez, Cristina Mesas, Milagros Galisteo, Gloria Perazzoli, Jose Prados, Jesús M Porres, Consolación Melguizo, Laura Cabeza

RESUMEN: En la actualidad, a pesar de los avances en su tratamiento, el cáncer colorrectal (CCR) se sitúa como el tercer cáncer más frecuente y el segundo más mortal a nivel mundial. La necesidad de encontrar nuevas estrategias para mejorar el pronóstico de estos pacientes ha impulsado la búsqueda de nuevos compuestos con actividad biológica en los océanos, por ser una gran fuente de biodiversidad. La investigación de los recursos naturales marinos ha dado lugar a la identificación de numerosos compuestos bioactivos, algunos de ellos con potencial antitumoral u/o antioxidante que podrían ser susceptibles de ser usados para el tratamiento y/o prevención del CCR. Siguiendo esta tendencia, el objetivo de nuestro trabajo es analizar las propiedades de la anémona de mar *Anemonia sulcata* con y sin su simbiote *Symbiodinium* como nueva fuente para la obtención de agentes antioxidantes o antitumorales con potencial aplicación frente al CCR. Para ello, en primer lugar, varios ejemplares de *Anemonia sulcata*, suministrados por la empresa iMare Natural, fueron procesados para obtener diferentes extractos (homogeneizado crudo, extracto etanólico e hidrolizado proteico). La actividad antioxidante de dichos extractos se analizó mediante pruebas bioquímicas indirectas (método Folin-Ciocalteu y ensayo ABTS) y en células HT-29 expuestas a H₂O₂. Su actividad citotóxica también se testó, utilizando líneas celulares de cáncer de colon humanas (T-84, HT-29, HCT-15, SW-480), de ratón (MC-38) y una línea de colon no tumoral (CCD-18) mediante el ensayo MTT. Además, se estudio la modulación del ciclo celular y la influencia sobre la capacidad de migración celular de los extractos. Por último, se analizó la composición de los homogeneizados crudos mediante espectrometría de masas, en búsqueda de compuestos bioactivos. En cuanto a los resultados del estudio de la capacidad antioxidante, las pruebas bioquímicas demostraron que todos los extractos de *Anemonia Sulcata* poseían capacidad reductora y de captación de radicales libres. Sin embargo, las pruebas en cultivos celulares determinaron que solo los homogeneizados crudos tuvieron un significativo efecto antioxidante con aumentos de proliferación celular de hasta 1,6 y 2,7 veces con el homogeneizado crudo con y sin el simbiote, respectivamente. Además, el homogeneizado crudo de *A. sulcata* tuvo un potente efecto antiproliferativo en todas las líneas de cáncer de colon testadas. La mayor citotoxicidad la mostró el homogeneizado crudo sin simbiote (IC₅₀ de 7,78 y 2,36 µg/mL en T-84 y 3,45 y 1,21 µg/mL en MC-38 con anémona con y sin simbiote respectivamente). Las diferencias observadas entre el homogeneizado con y sin simbiote, podrían ser consecuencia del bleaching (retirada del simbiote), que genera un gran estrés oxidativo en el animal dando lugar a la sobreexpresión de enzimas antioxidantes y otras moléculas con actividad biológica. Además, el homogeneizado crudo sin simbiote mostró un efecto modulador del ciclo celular mientras que ninguno de los homogeneizados afectó a la capacidad de migración celular. El análisis por espectrometría de masas de estos homogeneizados crudos permitió identificar algunos compuestos bioactivos de forma tentativa como Gadusol, Ophioxanthol (carotenoide), etc., con demostrada capacidad antioxidante. Sin embargo, será necesario realizar más estudios para elucidar de manera fiable su presencia en dichos extractos. En resumen, podemos concluir que el homogeneizado crudo de *Anemonia sulcata* con y sin la presencia del simbiote *Symbiodinium* posee actividad citotóxica y antioxidante en células de CCR, siendo el homogeneizado sin simbiote el más efectivo. Los resultados de este estudio preliminar indican que *Anemonia sulcata* puede ser una novedosa fuente de moléculas bioactivas para el tratamiento y la prevención del CCR.

PAPEL DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LOS HONGOS MARINOS EMERICELLOPSIS MARITIMA Y PURPUREOCILLIUM LILACINUM EN EL EFECTO ANTITUMORAL Y ANTIOXIDANTE EN CÁNCER DE COLON

Gloria Perazzoli, Rosario Martínez, Cristina Pinedo, Cristina Mesas, Raúl Ortiz, Consolación Melguizo, Jesús M Porres, José C Prados

RESUMEN: En las últimas décadas y debido a la gran demanda de la industria farmacológica han aumentado el estudio de nuevos compuestos derivados del metabolismo secundario de microorganismos marinos ya que han demostrado poseer capacidad fungicida, antibiótica e incluso antitumoral. Son varios los estudios que demuestran que estos metabolitos tienen efecto antitumoral en cáncer de páncreas, mama o pulmón, pero aún se desconoce su efecto en otros tipos tumorales. El cáncer de colon es el cuarto tumor en incidencia a nivel mundial y a pesar del tratamiento que reciben este tipo de pacientes es el tercero en mortalidad. Es por esto que se hace necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos, en este caso basados en metabolitos secundarios de hongos marinos que sean de interés desde el punto de vista de la aplicación, como preventivo o como terapia, frente al este tipo tumoral. Para la realización de este estudio se han utilizado metabolitos secundarios de dos especies de hongos marinos, Emericellopsis marima y Purpureocillium liliacinum, para comprobar el efecto tanto antitumoral como antioxidante que presentan en células tumorales de colon. Se han probado un total de 19 compuestos derivados del metabolismo secundario de ambas especies marinas, 14 procedentes de Emericellopsis marítima y 5 de Purpureocillium liliacinum. Para comprobar el efecto antitumoral de estos compuestos, se utilizaron las líneas tumorales de colon T84 y SW480 y la línea CCD18 línea no tumoral. Se llevaron a cabo estudios de citotoxicidad mediante el método de la sulforrodamina B a 72h. Para los ensayos de capacidad antioxidante se utilizó el método ABTS. Los resultados obtenidos tras el análisis de la capacidad antitumoral muestran que los compuestos no presentan toxicidad en la línea no tumoral CCD18, mientras que en las líneas T84 y SW480, todos los compuestos presentan valores de IC50 por debajo de 100ug/ml. Los compuestos que presentan una mayor citotoxicidad son los compuestos 2, 3 y 14 procedentes de Emericellopsis marítima con valores de IC50 de $28,75 \pm 0,090$, $58,90 \pm 0,023$ y $71,70 \pm 0,036$ para la línea T84 y $11,85 \pm 0,045$, $27,94 \pm 0,073$ y $38,30 \pm 0,027$ para la línea SW480 respectivamente, y 18 y 19 pertenecientes a Purpureocillium liliacinum con valores de IC50 de $88,40 \pm 0,052$ y $11,30 \pm 0,041$ para la línea T84 y $41,40 \pm 0,008$ y $6,40 \pm 0,016$ para la línea SW480 respectivamente. Los estudios de capacidad antioxidante se realizaron en dos compuestos, el compuesto 14 perteneciente a Emericellopsis marítima y el compuesto 19 perteneciente a Purpureocillium liliacinum. Los valores obtenidos tras este estudio muestran que el compuesto con más capacidad antioxidante es el 19 con un valor de $332,53 \pm 28,78$ ug AG/ml mientras que el compuesto 14 obtuvo un valor de $18,95 \pm 3,27$ ug AG/ml. Las conclusiones de este estudio muestran que los compuestos testados procedentes del metabolismo secundario de Emericellopsis marima y Purpureocillium liliacinum presentan muy buenos resultados en su efecto antitumoral en las líneas tumorales de colon T84 y SW480 en el que se puede destacar el comportamiento del compuesto 19 quien presenta el valor más bajo de IC50 en ambas líneas testadas siendo este compuesto además, el que presenta un mayor valor de capacidad antioxidante. Sin embargo, serán necesarios más estudios para dilucidar el mecanismo de acción de estos compuestos y su potencial uso clínico.

CAPTACIÓN DE AZUFRE PARA APLICACIONES ANTITUMORALES

Porras-Quesada M, Álvarez-Rodríguez P, Ruiz-Ruiz MC, Porras I, Ruiz-Magaña MJ

RESUMEN: El azufre es uno de los elementos esenciales de la materia viva y forma parte de innumerables compuestos que juegan un importante papel biológico. Presente en los aminoácidos cisteína y metionina, en péptidos y proteínas (muchas con alto contenido en el mismo), es por tanto un elemento muy prometedor para introducir en tumores por su metabolismo acelerado. Existen hasta tres isótopos de azufre (^{33}S , ^{35}S y ^{37}S) con los que se podrían marcar compuestos de azufre selectivos para la terapia del cáncer o para diagnóstico del mismo. De los isótopos mencionados destacamos el interés que presenta el ^{33}S ya que posee capacidad de emitir partículas alfa tras la captura de neutrones, por ello se ha propuesto como un posible isótopo coadyuvante al ^{10}B en la terapia mediante captura de neutrones por boro (BNCT) [1]. En trabajos previos se ha determinado la concentración mínima que debería alcanzarse en el tumor para tener un efecto apreciable, que es mayor de 1 mg/g de tejido (> 1000 ppm), siendo el objetivo alcanzar 10 mg/g [2]. Este isótopo debe presentar una selectividad elevada, es decir, que en el tejido sano la concentración sea mucho menor (deseable 10 veces menor). El efecto terapéutico, producido por la partícula alfa y el núcleo de retroceso, tiene un alcance de unas micras, esto implica igualmente selectividad celular. En este proyecto estamos estudiando distintos compuestos azufrados para determinar su acumulación de forma selectiva en las células tumorales, en elevadas concentraciones. Es interesante saber que ya de forma natural el azufre está presente en los tejidos (dependiendo del mismo) en proporciones del orden de 0.1% (1 mg/g), luego en principio es una posibilidad factible alcanzar las concentraciones buscadas mediante el reemplazo del azufre vía nutrientes o compuestos suministrados externamente en tejidos en proliferación. En trabajos previos se han encontrado elevadas concentraciones de glutatión en una gran variedad de tumores [3], de manera que se ha considerado como primer objetivo de este proyecto la posibilidad de incorporar el azufre externo a las células tumorales a partir de precursores del glutatión, como aminoácidos esenciales. En primer lugar, se realizaron estudios de toxicidad con L-Cisteína, Metionina y N-Acetil-L-Cisteína, estableciendo una dosis máxima tolerable en diversas líneas celulares tanto sanas como tumorales. Los resultados encontrados muestran una muy baja toxicidad de dichos compuestos, en concentraciones superiores al mg/g. Una vez conocida la toxicidad, se está procediendo al estudio de la captación de azufre en diversas líneas celulares (sanas y tumorales), mediante análisis por espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES). Se está realizando la comparación entre células control y células tratadas con los compuestos de azufre mencionados, y los resultados preliminares muestran una captación mayor en las células tratadas. Como futura línea de investigación, se probará el compuesto de mayor selectividad, enriquecido en ^{33}S , como nuevo compuesto diana para la terapia por captura de neutrones, administrándolo previamente a la irradiación. Es interesante destacar los niveles elevados de azufre encontrados en la línea celular A375 de melanoma humano, incluso en las células no tratadas, lo que muestra una gran captación de azufre del medio. Esto abre la posibilidad de suministrar el compuesto enriquecido a partir de la dieta para el tratamiento del melanoma. Además es especialmente interesante esta aplicación porque la reacción de los neutrones con azufre es más importante a pequeñas profundidades.

[1] López-Casas I et al. (2020). Exploring neutron capture therapy with ^{33}S and ^{10}B , Appl. Radiat. Isot. 163:109220. [2] Porras I et al. (2014), ^{33}S for Neutron Capture Therapy: Nuclear Data for Monte Carlo Calculations, Nucl. Data Sheets, 120:246-249. [3] Gamcsik MP et al. (2012). Glutathione Levels in Human Tumors. Biomarkers. 17:671-691.

LA ENDOTELINA-1 COMO INTERMEDIARIA DE LA INDUCCIÓN DEL FENOTIPO STEM MEDIADO POR LA HEMO OXIGENASA-1 EN EL CÁNCER COLORRECTAL: PAPEL DE P53

Puentes-Pardo, Jose D.; Moreno-SanJuan, Sara; García-Márquez, Joaquín; García-Robles, Adelina; González-Puga, Cristina; Gálvez, Julio; León, Josefa

RESUMEN: La Hemo Oxigenasa-1 (HO-1) es una proteína antioxidante implicada en la progresión tumoral, metástasis y resistencia al tratamiento. Una elevada expresión de HO-1 se ha asociado con un aumento en la cantidad de células madre cancerosas (CMCs) en distintos tipos de cáncer, sin embargo, este aspecto no se ha estudiado aun en el cáncer colorrectal (CRC). Utilizando un modelo in vitro, hemos demostrado que la sobreexpresión de HO-1 regula el fenotipo stem y la resistencia al tratamiento con 5-FU, independientemente del estado de p53. En muestras de pacientes, la expresión de HO-1 y de la enzima convertidora de endotelina-1 (ECE-1) se correlacionan significativamente, sin que p53 influya en este resultado. El monóxido de carbono (CO), un subproducto de la actividad de la HO-1, activa la ruta ECE-1/Endotelina-1 (ET-1), lo cual podría explicar los efectos protumorales de HO-1 en las células con p53 salvaje, como se demostró al tratar con bosentan, un antagonista de los receptores de la endotelina. Sorprendentemente, en las células sin p53, o con p53 mutado con ganancia de función, la ET-1 producida por la ECE-1 actuó como una molécula protectora, ya que el tratamiento con bosentan redujo la formación de esferas y el porcentaje de CMCs. En estas células, HO-1 podría activar o inactivar ciertas rutas, aún desconocidas, que podrían inducir estas respuestas contradictorias tras la administración de bosentan, por lo que se necesitan más investigaciones para confirmar estos resultados. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que en aquellos pacientes con elevada expresión de HO-1 y ECE-1, y que además presenten cambios en cuanto al estado de p53 deberían ser considerados para terapias basadas en HO-1 en lugar de aquellas centradas en antagonistas de la ET-1.

REGULACIÓN DE LA POLARIZACIÓN DE MACRÓFAGOS MEDIADA POR LA PROTEASA EXTRACELULAR ADAMTS1

Redondo-García, Silvia; Caracuel-Peramos, Rita; Plaza-Calonge, María del Carmen; Madsen, Daniel H.; Rodríguez-Manzaneque, Juan Carlos.

RESUMEN: En los últimos años, el estudio del microentorno tumoral y su heterogeneidad ha permitido conocer con más detalle su papel en la progresión del cáncer. Sin embargo, aún hay importantes controversias sobre la función de múltiples factores de este microentorno, destacando la de componentes no celulares como la matriz extracelular o las proteasas, que requieren todavía una mayor investigación. Entre las proteasas extracelulares se encuentra ADAMTS1, una molécula conocida por su dualidad en cáncer dependiendo de su origen o del modelo tumoral estudiado. Recientemente, nuestro grupo ha descrito sus propiedades inmunomoduladoras en modelos murinos sanos y de crecimiento tumoral, como el B16F1 de melanoma. A partir de estos estudios, su impacto en el contexto de la inmunidad tumoral y en poblaciones inmunes específicas está siendo motivo principal de nuestra investigación. En este trabajo comparamos 2 modelos tumorales murinos con diferente infiltración inmune: uno altamente inmunogénico (B16F1) y otro poco inmunogénico (Lewis Lung Carcinoma, LLC). El impacto de ambas líneas celulares se ha estudiado en ratones silvestres (WT) o deficientes de la proteasa ADAMTS1 (Ats1-KO). Mientras que la ausencia de ADAMTS1 en el estroma limita de manera relevante el crecimiento de los tumores B16F1, esto no ocurre en el caso de LLC, a pesar de que en ambos modelos se observó una destacada infiltración de células T en ratones Ats1-KO. Paralelamente, también se evaluó la relevancia de ADAMTS1 de origen tumoral, inyectando células LLC modificadas genéticamente con menos ADAMTS1 (LLC-shAts1). Aunque el crecimiento tumoral tampoco fue alterado en este caso, sí se observó un ambiente más pro-tumorigénico representado por un aumento de células inmunosupresoras y una sobreexpresión de los genes Cd163 y Cd206 relacionados con macrófagos pro-tumorigénicos o M2. Ante estas diferencias in-vivo, se llevaron a cabo ensayos in-vitro de polarización de macrófagos derivados de médula ósea (BMDM) obtenidos de ratones WT y Ats1-KO. Así, se evaluó su polarización a M1 (anti-tumorigénicos) y M2, usando medio condicionado (CM) de células LLC, B16F1, LLC-shAts1 y B16F1-shAts1. Mientras que la ausencia de ADAMTS1 en el macrófago (de ratones Ats1-KO) no conllevaba diferencias de polarización, la inhibición de la proteasa en ambas líneas celulares (shAts1) sí que promovió la polarización a M1 de manera similar. Estos resultados nos llevaron a estudiar el secretoma de las células, analizando sus correspondientes CM mediante un array de citoquinas. De manera destacada, la inhibición de ADAMTS1 en ambos modelos revelaba niveles disminuidos de IL33 y LDLR, cuya candidatura como moléculas reguladoras de la polarización está siendo actualmente evaluada. En el afán de conocimiento de las vías activadas en macrófagos por las células LLC, adicionalmente estamos realizando estudios bioinformáticos usando datos de RNAseq de BMDM no activados y activados con CM de LLC. El uso de Ingenuity Pathway Analysis (IPA) revela la activación de rutas relacionadas con señalización de ERK/MAPK, TLR, p38 MAPK y Th1/Th2. Además, de manera destacada aparecen los factores IL33 y LDL, involucrados en rutas relacionadas con TNF, NFkB y STAT3 entre otras, sugiriendo su posible contribución a la polarización de los macrófagos. A modo de conclusión, este trabajo muestra la potente actividad inmunomoduladora de ADAMTS1, revelando igualmente su diferente contribución dependiendo de su origen tumoral o estromal. Pese a la ausencia de diferencias in-vivo en el modelo LLC, la inhibición de ADAMTS1 en la célula tumoral sí que promueve la polarización de los macrófagos a M1 en ensayos in-vitro. Estas diferencias remarcan de nuevo la relevancia del estroma, el cual parece ser responsable de nuestras diferencias entre los resultados en cultivo y en animales. Finalmente, aunque se necesitan experimentos de comprobación, se han encontrado IL33 y LDLR como posibles reguladores del efecto observado in-vitro.

BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES DE CALIDAD DE MUESTRAS DE TEJIDO INCLUIDAS EN PARAFINA: PROYECTO OPTIMARK

Rejón, JD; Almenara, I; Alba, D; Alenda, C; Rodrigo, MT; Denuc, A; Iglesias, M; Astudillo, A; Arenaz, I; Bahamonde, O; Encabo, MM; Escámez, T; Fraga, M; Giraldo, C; Guerrero, C; Navarro H; Peiro, L; Rábano, A; Rebolledo, AB; Ruíz, MI; Serrate, A; Vieiro, P; Pascual, S; Novoa, I; Artiga, MJ; Zazo, S.

Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía¹, Biobanco ISABIAL², Biobanco HCB-IDIBAPS³, MAR Biobanc, Biobanco del Consorci Mar Parc de Salut de Barcelona⁴, Biobanco del Principado de Asturias⁵, Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (IACS)⁶, Biobanco INCLIVA⁷, Biobanco en Red de la Región de Murcia, Biobanco IMIB⁸, Biobanco del Complejo Hospitalario de Santiago de Compostela⁹, Biobanco del Hospital Universitario Fundación Alcorcón (HUFA)¹⁰, Banco de Tejidos Fundación CIEN¹¹, Biobanco IRB-Lleida¹², Biobanco Hospital Universitario Vall D'Hebron Institut de Recerca (VHIR)¹³, Biobanco CNIO¹⁴, Biobanco Fundación Jiménez Díaz¹⁵, Red Nacional de Biobancos (RNBB) ISCIII¹⁶.

RESUMEN: La calidad de las muestras de tejido es clave para la investigación biomédica y en ella cumple un papel fundamental el control de las variables preanalíticas ya que tienen un efecto directo sobre los resultados obtenidos, la reproducibilidad de los estudios científicos y, por tanto, en el desarrollo de biomarcadores de enfermedad. Estas variables representan entre el 30 y el 75 % de los errores que se reflejan en el proceso analítico. El proyecto multicéntrico OPTIMARK, desarrollado en el contexto de la Red Nacional de Biobancos (red española), implica a más de 40 investigadores de 20 biobancos cuyo objetivo principal es identificar biomarcadores de calidad relacionados con variables preanalíticas en muestras de tejido congelado e incluidas en parafina. En este estudio analizamos la variable preanalítica de tiempo de almacenamiento de muestras de tejido incluidas en parafina con el objetivo de identificar si existe pérdida de antigenicidad de los tejidos después de que estos permanezcan almacenados largos periodos. Para ello se analizaron 463 muestras de tejido incluidas en parafina, 223 muestras de tejido tumoral y 240 muestras no tumorales, de 4 localizaciones anatómicas diferentes (colon, endometrio, cerebro y estómago) que se agruparon por tiempo de almacenamiento en diferentes grupos: Control: 20 años de almacenamiento. Biomarcadores: se seleccionaron marcadores de uso rutinario con el fin de que estos controles de calidad se integraran dentro de los flujos de trabajo ya existentes en los diferentes biobancos. Los marcadores seleccionados han sido siguientes: Ki67, MLH1, MSH2, MSH6 y PMS. Las muestras se incluyeron en TMAs (Tissue microarrays) y se realizaron tinciones inmunohistoquímicas que fueron digitalizadas y cuantificadas automáticamente. En cuanto a los análisis estadísticos realizados, han sido: test de Kruskal Wallis, ANOVA, y el test DUNN. Los resultados muestran que los biomarcadores Ki67, MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, disminuyen su antigenicidad con el tiempo de almacenamiento en muestras de colon, siendo el efecto más patente en tejidos tumorales de colon. La disminución de antigenicidad también se muestra en estómago para los marcadores de Ki67 y PMS2 y en endometrio para Ki67. En el caso de tejido cerebral la antigenicidad obtenida con MSH2 y MSH6 muestra una tendencia descendente a lo largo del tiempo de almacenamiento, pero los valores obtenidos no son significativos ($p < 0,067$ y $p < 0,078$, respectivamente) para estos marcadores y sería necesario un conjunto de muestras más numeroso para poder ser validado. Globalmente, los resultados obtenidos muestran que Ki67, MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 disminuyen sus niveles de intensidad y el porcentaje de células teñidas con el tiempo de almacenamiento, por lo que pueden ser empleados como marcadores útiles para evaluar el envejecimiento tisular aunque su utilidad es dependiente de la localización anatómica del tejido. En conclusión, el presente trabajo muestra que la variable preanalítica de tiempo de almacenamiento es importante en muestras de tejido parafinado, y que los tejidos parafinados sufren un deterioro que se refleja en la reducción de la señal de antigenicidad. Los biomarcadores seleccionados en este estudio para monitorizar el envejecimiento del tejido no se comportan de la misma manera en todos los tejidos analizados, así, Ki67, MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 parecen que son buenos marcadores para tejidos digestivos, mientras que para el tejido cerebral no lo son.

TESTING THE INHIBITION OF AKT PATHWAY TO ENHANCE DESMOSOMAL PKP1 PROTEIN INVOLVED IN TUMOR SUPPRESSION

Félix Ritoré-Salazar, Xavier Minguillón, Maribel Isabel Rodríguez and Pedro P. Medina.

RESUMEN: PKP1 es conocida por ser una proteína clave en la función de los desmosomas, estructuras celulares especializadas en proporcionar una adherencia focal célula-célula jugando un papel importante en dar fortaleza a tejidos que experimentan estrés mecánico, como puede ser el músculo cardíaco y epidermis. Mutaciones en PKP1 provocan un menor número y una peor constitución de las estructuras desmosómicas, que se traduce fenotípicamente en una pérdida de la integridad de la epidermis, que genera una patología conocida como síndrome de fragilidad de la piel. Su actividad como un integrante importante de los desmosomas confiere a PKP1 un papel como supresor tumoral que choca frontalmente con una realidad en el cáncer de pulmón escamoso ya que PKP1 se encuentra entre las proteínas más sobre-expresadas de cáncer de pulmón. La proteína PKP1 citoplasmática puede encontrarse asociada a dos elementos: los desmosomas o la maquinaria de traducción celular. A "PKP1 desmosomal" se le ha atribuido un papel supresor tumoral, teniendo funciones más relacionadas con la adhesión. En cambio, "PKP1 traductor" estaría involucrado en aumentar la traducción de ciertos mensajeros, como es el caso del ARN mensajero del gen MYC, otorgándole un papel oncogénico. La distribución de "PKP1 desmosomal" y "PKP1 traductor" está determinada por el estado de fosforilación de la proteína. Mientras que "PKP1 desmosomal" está normalmente desfosforilada, "PKP1 traductor" está fosforilada. La vía que lleva a cabo esta fosforilación es la de Akt. Teniendo en cuenta lo anterior, podríamos redirigir la función oncogénica de "PKP1 traductor" a la función supresora de la "PKP1 desmosomal" inhibiendo la vía AKT y por tanto su posterior fosforilación. Se han utilizado inhibidores de Akt (Perifosine, AZD5363, GDC-0068) para aumentar la "PKP1 desmosomal". Para ello, se sembraron células SK-MES-1 ("PKP1 KO" y "Control") y se incubaron en un medio que contenía un intervalo de concentraciones de inhibidores de Akt durante 24, 24 y 72 h. Se realizaron ensayos de viabilidad para calcular las diferentes IC50 para cada fármaco y línea celular. Nuestros resultados muestran que las IC50 calculadas de SK-MES-1 "PKP-1 KO" son más bajas que las de SK-MES-1 "Control", lo que sugiere que la ausencia de PKP1 sensibiliza a las células de los inhibidores de Akt. Estudios futuros, como la repetición de estos experimentos en otros modelos celulares como pueden ser en modelos knock down y de sobreexpresión, nos ayudará a elegir el mejor de los fármacos y modelo. Así mismo, se llevarán a cabo ensayos de migración y análisis de imágenes de células vivas para comprender, a nivel molecular, el papel de la proteína. Todo esto, nos ayudarán a dilucidar la viabilidad de utilizar este modelo como terapia contra el cáncer de pulmón.

LA MELATONINA INDUCE LA RESINCRONIZACIÓN CIRCADIANA DE BMAL1 Y SIRT1 EN CÉLULAS TUMORALES DE CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO.

César Rodríguez-Santana, Laura Martínez-Ruiz, Javier Florido; Alba López-Rodríguez, Alejandro Fábrega-Puentes, Alberto Jesús Medina-Martínez, Germaine Escames

RESUMEN: Los genes reloj son los responsables de la maquinaria circadiana de los mamíferos, causantes de generar cambios rítmicos en muchos procesos fisiológicos, incluyendo la homeostasis redox o la biogénesis mitocondrial a través de las sirtuinas. Dicha maquinaria consiste en un ciclo de retroalimentación de transcripción-traducción cuyos activadores principales son CLOCK y BMAL1. Existen numerosas evidencias que demuestran que una alteración del ritmo circadiano está relacionada con un aumento de la tumorigénesis. Además, se ha demostrado que en una gran variedad de células tumorales son frecuentes las alteraciones genéticas en las proteínas del reloj circadiano, e incluso, aunque no posean dichas alteraciones, las células tumorales suelen presentar alteraciones en la señalización circadiana. Así pues, la melatonina es responsable de regular los ritmos circadianos de numerosas especies así como de poseer numerosos efectos oncostáticos. Por todo ello, el objetivo de este estudio ha sido estudiar el efecto de la melatonina en la apoptosis, proliferación y producción de ROS en la línea celular tumoral Cal-27 y estudiar su efecto en la expresión de Bmal1 y Sirt1. Para llevar a cabo este objetivo se obtuvo cDNA o proteína de pellets de células Cal-27 a diferentes horas tras el tratamiento con melatonina. Posteriormente se realizaron qPCR o Western Blot para el estudio de la expresión de Bmal1 y Sirt1. Además, se estudió el efecto de la melatonina en la proliferación celular, mediante CyQUANT, en apoptosis, usando anexina V/ yoduro de propido, y la producción de ROS empleando DCFH. Los resultados muestran como la melatonina, a una dosis de 500 nM, induce la expresión circadiana de Bmal1 y Sirt1. Además, la proliferación muestra una disminución dosis respuesta con la melatonina. Por otro lado, la apoptosis aumenta de forma significativa con dosis altas de melatonina. Por último, los ROS también muestran un incremento en su producción a dosis elevadas de melatonina. En conclusión, los resultados demuestran que la melatonina induce un aumento de la apoptosis y disminución de la proliferación debida, posiblemente, a un efecto pro-oxidante de esta molécula en células tumorales. Dichos efectos se correlacionan con una sincronización de Bmal1 así como de Sirt1, claramente relacionadas con la función mitocondrial. Todo ello evidencia una vía por la que la melatonina podría producir una gran variedad de efectos oncostáticos en células tumorales.

TUMOR MICROENVIRONMENT AS THE NEW TARGET IN CANCER

María Belén Toledo Cutillas, Aitor Gonzalez Titos, Pablo Hernández Camarero, Elena López Ruiz, Juan Antonio Marchal Corrales y Macarena Perán Quesada

RESUMEN: Los tumores son sistemas complejos que se caracterizan por las interacciones dinámicas entre las células neoplásicas, las células no tumorales y los componentes extracelulares que pueblan el microambiente tumoral (TME) el cual desempeña un papel fundamental durante la aparición, la progresión y la metástasis del tumor y no depende únicamente de las características de las células cancerosas. Entre todas las células estromales que pueblan el TME, los fibroblastos asociados al cáncer (CAF) son los elementos más abundantes y están críticamente implicados en esta enfermedad. Los estudios han demostrado que la población de CAFs contiene diferentes subtipos basados en la expresión de proteínas marcadoras con capacidad para promover o inhibir el crecimiento, supervivencia y propagación del cáncer, siendo su papel biológico como cómplices o adversarios dependiente de muchos factores, incluyendo el estadio del cáncer. Pasando de ser considerados un mero soporte físico a convertirse en actores clave del proceso tumoral. A lo largo de esta revisión abarcamos cuestiones clave como son los procesos por los que los fibroblastos adquieren un fenotipo pro o antitumoral, heterogeneidad y plasticidad de CAFs, su origen múltiple, cómo contribuyen a la progresión del cáncer y los retos terapéuticos dirigidos a eliminar, reducir o revertir los CAFs.

PÓSTERS

- Identificando el papel de TbHD82 en la homeostasis de nucleótidos en *Trypanosoma brucei*
- Análisis de la contribución de la microbiota y el gen *Bank1* sobre el desarrollo de autoinmunidad en un modelo murino de lupus
- El contenido intestinal de niños asmáticos con obesidad modifica la respuesta inmunológica en organoides de intestino delgado de ratón
- Efecto antiinflamatorio del extracto de *Nopalea Cochenillifera* en modelo de colitis inducida por DNBS
- Dietary Sodium and Potassium, and Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus
- Metabolómica no dirigida del secretoma de MTBVAC: una vacuna viva atenuada contra *Mycobacterium tuberculosis*
- Beneficios de la balneoterapia en artritis reumatoide
- Perfiles genómico y metabolómico de la cepa de *Kibdelosporangium* CA-258510, un nuevo productor de compuestos antimicrobianos
- Estudio comparativo de la estabilidad fisicoquímica del anticuerpo monoclonal terapéutico Infliximab (Remicade®, innovador) y CT-P13 (Remsima®, biosimilar): evaluación de la estructura terciaria por espectropolarimetría de dicroísmo circular en el UV cercano
- Evaluación del dolor postoperatorio en el ratón: medición de parámetros funcionales y sensoriales
- La decidualización de las células deciduales estromales humanas inhibe la expresión de quimiocinas que atraen células T CXCR3+ (Th1, Tc1). Papel en la tolerancia inmunológica materno-fetal
- Impacto del probiótico *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 en un modelo experimental de cáncer asociado a colitis: evaluación del efecto antitumoral y antiinflamatorio
- Activación de los inflamomas NLRP-3 y AIM-2 en la enfermedad peri-implantaria
- Descubrimiento de gargarulidas B y C, nuevas macrolactonas de 52 miembros con actividad antibacteriana aisladas de *Amycolatopsis* sp. Estereoquímica absoluta completa de la familia de gargarulidas
- Identificación, clonación y expresión heteróloga de la ruta biosintética de Globomicina
- Evaluación de función barrera epidérmica y homeostasis cutánea de crema DermControl en pacientes sanos
- Revisión de la estereoquímica absoluta del antibiótico telomicina en base a la secuencia de su NRPS y a los resultados del análisis quiral de sus aminoácidos
- Regulación transcripcional del receptor para antígenos de linfocitos T $\gamma\delta$
- Estudio de la respuesta inmunológica celular efectora y reguladora específica en pacientes alérgicos al veneno de abeja o al polen de olivo de fenotipo grave con reacciones sistémicas durante la inmunoterapia
- Identificación y expresión heteróloga de la ruta biosintética de cacaodina, el primer lantipeptido de clase V
- Genome mining en la Fundación Medina: identificación de las rutas de biosíntesis de moléculas prometedoras
- Identificación, aislamiento-bioguido y evaluación de la potencia de la población de metabolitos antibacterianos producidos por la cepa *Kribbella* CA-293567
- The effect of body fat distribution on the systemic sclerosis: a Mendelian randomization study

IDENTIFICANDO EL PAPEL DE TBHD82 EN LA HOMEOSTASIS DE NUCLEÓTIDOS EN TRYPANOSOMA BRUCEI

Pablo Antequera-Parrilla, Víctor M Castillo-Acosta, Miriam Yagüe-Capilla, Luis Miguel Ruiz-Pérez, Dolores González-Pacanowska

RESUMEN: La enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana es una enfermedad infecciosa causada por el parásito *Trypanosoma brucei* y transmitida por la mosca del género *Glossina* llamada mosca tsé-tsé. Es endémica en 36 países de África subsahariana con pocos recursos económicos y sanitarios. La escasez de fármacos eficaces y sin efectos secundarios para esta enfermedad, así como su tendencia a convertirse en epidemia si no es controlada, hace imprescindible la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas que puedan ser explotadas en el diseño de tratamientos alternativos. Uno de los procesos fisiológicos con gran interés terapéutico es el correcto mantenimiento de los niveles de desoxirribonucleótidos (dNTPs) dentro de la célula, ya que es vital para la supervivencia del parásito. De una adecuada homeostasis del pool de dNTPs depende la integridad del ADN tanto durante el proceso de replicación como el de reparación, y por consiguiente la fidelidad de la transmisión genética. En humanos, una de las proteínas más relevantes en el control de los niveles de dNTPs es SAMHD1, una dNTP trifosfohidrolasa que cataliza la hidrólisis de un dNTP a su correspondiente desoxirribonucleósido y una molécula de trifosfato. En *T. brucei* se han identificado dos ortólogos putativos de SAMHD1, denominados TbHD52 y TbHD82 en función de su masa molecular, que podrían tener potencial terapéutico. Ambas presentan un dominio HD, con histidinas y ácido aspártico que está conservado en la SAMHD1 humana y que constituye el dominio donde reside la actividad trifosfohidrolasa. TbHD52 es una proteína mitocondrial implicada en la provisión de desoxicitidina para la síntesis de dTTP. Por otra parte, estudios recientes con TbHD82 han revelado una localización nuclear y que su deficiencia produce una inhibición del crecimiento con respecto a la línea parental. La cuantificación de los niveles de dNTPs en células TbHD82-knockout ha mostrado una significativa acumulación de dATP y dCTP, que es revertida si se induce la expresión de la proteína a partir de una copia ectópica inducible por doxiciclina. Además, las células TbHD82-knockout presentan una mayor respuesta a daño temprano en el ADN, medida por la cantidad de foci de γ -H2A fosforilado en el núcleo. Finalmente, ensayos in vivo de infección en modelos murinos han puesto de manifiesto que mutantes deficientes en TbHD82 son menos infectivos que la línea parental, lo cual podría tener relación con una función protectora frente al estrés oxidativo que sufre el parásito en el hospedador durante las etapas tempranas de la infección. En definitiva, proponemos que TbHD82 tiene un papel central en la homeostasis de dNTPs en *Trypanosoma* y que su función es esencial para la progresión de la infección en modelos animales de la enfermedad.

ANÁLISIS DE LA CONTRIBUCIÓN DE LA MICROBIOTA Y EL GEN BANK1 SOBRE EL DESARROLLO DE AUTOINMUNIDAD EN UN MODELO MURINO DE LUPUS

María Botía Sánchez, Georgina Galicia, Lorena Albaladejo y Marta Alarcón Riquelme.

RESUMEN: La contribución de la microbiota intestinal es un factor cuya importancia es cada vez mayor dentro del campo de estudio de la patogénesis en las enfermedades inmunitarias. Sin embargo, su papel aún está por determinar. Más concretamente en el lupus eritematoso sistémico (LES), una enfermedad autoinmune caracterizada por una inflamación persistente que afecta a múltiples órganos, la contribución de la microbiota intestinal y su papel en el desarrollo de la patología continúa siendo un factor desconocido. En nuestro grupo, hemos caracterizado las manifestaciones de esta enfermedad en el tejido linfoide asociado al intestino y hemos observado una inflamación intestinal persistente que va acompañada de cambios en la composición de la microbiota. Para ello, hemos utilizado un modelo murino de lupus inducido por imiquimod (dependiente de TLR7). Los resultados muestran que los ratones deficientes para el gen *Bank1* experimentan un síndrome de gravedad más leve y manifiestan una composición de la microbiota que es significativamente diferente en comparación con sus homólogos WT. Un análisis más detallado sobre cómo este gen podría contribuir tanto a la composición de la microbiota como a las manifestaciones de la enfermedad ha señalado a las células B productoras de IL-10 como un posible mecanismo. Estas células están siendo caracterizadas por su contribución reguladora a la inflamación autoinmune y su posible relación con la composición de la microbiota. Las primeras aproximaciones han demostrado que las células B secretoras de IL-10 aumentan rápidamente en las placas de Peyer tras una inflamación aguda en ratones deficientes en *Bank1*, pero no en ratones WT. Se necesitan, sin embargo, más estudios para determinar si *Bank1* es necesario para la activación de las células B productoras de IL-10 o si su contribución está mediada por cambios en la composición de la microbiota intestinal.

EL CONTENIDO INTESTINAL DE NIÑOS ASMÁTICOS CON OBESIDAD MODIFICA LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN ORGANOIDES DE INTESTINO DELGADO DE RATÓN

Samir Córdova, Mireia Tena-Garitaonaindia, Reyes Gámez-Belmonte, M^a Amelia Gómez Llorente, Fermín Sánchez de Medina, Ana Martínez-Cañavate, Olga Martínez Augustin, Carolina Gómez Llorente

RESUMEN: La obesidad y el asma son dos condiciones crónicas que afectan a millones de personas. Factores genéticos y relacionados con el estilo de vida contribuyen al aumento de la prevalencia de ambas condiciones. Una vez comprobada la alteración en la expresión de distintos genes, se estudió la implicación de las vías de transducción de señal de AKT, de NFkB y del RAGE utilizando distintos inhibidores. Además, la obesidad y el asma producen modificaciones en el contenido intestinal, de modo que también se producen alteraciones en la expresión génica

EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO DE NOPALEA COCHENILLIFERA EN MODELO DE COLITIS INDUCIDA POR DNBS

Tavares EA, Melo NMC, Andrade AWL, Araújo DFS, Silva ECS, Dantas-Medeiros R, Carvalho TG, Araújo-Júnior RF, Fachine-Tavares J, Rodríguez-Sojo MJ, Gálvez J, Guerra GBC, Zucolotto-Langassner SM

RESUMEN: Las enfermedades inflamatorias intestinales se caracterizan por una inflamación crónica del intestino derivada de una respuesta inmune intestinal exacerbada ante un determinado antígeno desconocido. El uso de alimentos ricos en compuestos bioactivos, con actividad antiinflamatoria, como Nopalea cochenillifera Salm-Dyck, pueden ser una nueva estrategia terapéutica. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto fitoquímico y antiinflamatorio del extracto de *N. cochenillifera* en colitis inducida por ácido 2,4-dinitrobenzenosulfónico (DNBS) en ratas. Para ello, en primer lugar, se realizó un estudio fitoquímico del extracto mediante cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas. Con respecto al modelo in vivo, se usaron ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) a las que se le indujo la enfermedad mediante la administración de 2,4-dinitrobenzenosulfónico (DNBS) por vía intracolónica. Tres días antes, así como tres días después tras la inducción de la enfermedad, los animales fueron tratados con tres dosis del extracto de *N. cochenillifera* (100, 200 y 300 mg / kg), además de un grupo control tratado con sulfasalazina (250 mg / kg). Se incluyeron dos grupos controles: un grupo colítico no tratado y un grupo no colítico. Durante el desarrollo del ensayo, se evaluó el estado inflamatorio mediante la medida del índice de actividad de la enfermedad (IAE). Cuando finalizó el ensayo, se cogieron muestras de colon, donde se midió la actividad mieloperoxidasa (MPO) para evaluar la inflamación. Además, también se cuantificaron citocinas (IL-1 β , TNF- α e IL-10) y se evaluó el estrés oxidativo midiendo malondialdehído (MDA). Por otro lado, se midió la cantidad de proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), factor kappa B (NF- κ B p65), mucina 2 (MUC-2) y ZO-1 mediante RT-qPCR. Para la evaluación histológica, secciones de las muestras de colon fueron teñidas con hematoxilina eosina. Los resultados del análisis fitoquímico permitieron identificar 8 compuestos, en su mayoría derivados del ácido benzoico. Por otro lado, la administración del extracto tuvo un efecto beneficioso en los animales colíticos evidenciado macroscópicamente por valores más bajos de DAI. Bioquímicamente, se observó una disminución de los niveles de marcadores inflamatorios como IL-1 β y TNF- α , el aumento de la citocina antiinflamatoria IL-10, así como valores de MDA y MPO más bajos en comparación con el grupo control. El efecto antiinflamatorio también se observó por la infra-regulación de los marcadores de la ruta MAPK y NF- κ B p65 en colon. El tratamiento además mejoró la integridad epitelial según el análisis histopatológico. Se puede concluir que el extracto de *N. cochenillifera* manifestó un efecto antiinflamatorio intestinal preventivo en el modelo experimental del DNBS en ratas.

DIETARY SODIUM AND POTASSIUM, AND DISEASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Sara Del Olmo-Romero, María Correa-Rodríguez, José-Luis Callejas Rubio, Raquel Ríos Fernández, María Rocio Gil Gutierrez, Norberto Ortego-Centeno, Blanca Rueda-Medina

RESUMEN: The aetiology of Systemic Lupus Erythematosus (SLE), a chronic inflammatory autoimmune disease, is unknown although it has been proposed that multiple genetic, immunological and environmental factors might play a main role. Diet has been recognized as a relevant factor influencing the development and prognosis of autoimmune diseases. Thus, we aimed to investigate the association between dietary sodium and potassium, and clinical disease activity parameters and damage accrual in a population of SLE patients. A cross-sectional study was conducted in a cohort of 280 patients with SLE (90.4% females; mean age 46.9 ± 12.85 years). A 24-hour diet recall was used to estimate dietary intake of sodium and potassium. The SLE Disease Activity Index (SLEDAI-2K) and the SDI Damage Index were used to assess disease activity and disease-related damage, respectively. Anti-double DNA (anti-dsDNA) titres were measured using the commercially available BioPlex 2200. Human complements C3 and C4 were determined quantitatively in serum samples through immunoturbidimetric assay. High-sensitivity CRP (hsCRP) level were determined by immunoturbidimetric assays. Homocysteine (Hcy) serum levels were measured with an enzymatic colorimetric assay using Liquid Stable 2-part Homocysteine Reagent. In conclusion, dietary sodium intake was significantly associated with anti-dsDNA ($\beta = -0.005$; 95% CI [0.002, 0.008]; $p = 0.001$) and complement C4 level ($\beta = -0.002$; 95% CI [-0.003, 0.000]; $p = 0.039$) after adjustments for age, sex, medical treatment and BMI. In addition, dietary potassium intake was also significantly associated with complement C3 level ($\beta = -0.004$; 95% CI [-0.007, -0.001]; $p = 0.021$). The conclusion shows that dietary sodium intake was significantly associated with anti-dsDNA and complement C4 level while dietary potassium intake was linked to complement C3 level, supporting that dietary sodium and potassium intake might play an important role in markers related to disease activity in SLE patients.

METABOLÓMICA NO DIRIGIDA DEL SECRETOMA DE MTBVAC: UNA VACUNA VIVA ATENUADA CONTRA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Caridad Díaz, Patricia Mena, Carmen González, Irene Pérez, José Pérez del Palacio, Olga Genilloud, Francisca Vicente, Carlos Martín, Jesús Gonzalo-Asensio

RESUMEN: La tuberculosis sigue siendo una enfermedad con una gran incidencia a nivel mundial. El informe de la OMS de 2020 muestra un aumento en el número de muertes anuales que ascienden hasta 1,5 millones. El reto que supone para la ciencia acabar con esta grave amenaza para la salud global hace necesario apostar por nuevas terapias que mejoren la eficacia de las existentes. En este contexto es muy importante el desarrollo de nuevas vacunas. La vacuna MTBVAC, una cepa atenuada a partir de *M. tuberculosis* por la delección de dos genes involucrados en la virulencia [1], y construida en la universidad de Zaragoza comenzará los ensayos clínicos en Fase III en el primer semestre de 2022. Como parte de la caracterización molecular de esta vacuna nos planteamos comparar el exometaboloma con el de su cepa parental MT103. En este trabajo se lleva a cabo un análisis metabolómico de los sobrenadantes de los cultivos de las siguientes cepas: MT103, MTBVAC, H37Rv, H37Rv Δ phoP y H37Rv Δ phoP-pWM222 usando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución con cuatro aproximaciones distinta, y que complementan los resultados obtenidos en el análisis del endometaboloma entre MT103 y MTBVAC[2]. En este estudio se pone de manifiesto la alteración de rutas metabólicas de *Mycobacterium*, que respaldan la eficacia de la vacuna en pruebas clínicas.

[1] Martín, Carlos, et al. "MTBVAC, a live TB vaccine poised to initiate efficacy trials 100 years after BCG", *Vaccine* (2021).

[2] Díaz, Caridad, et al. "Comparative metabolomics between *Mycobacterium tuberculosis* and the MTBVAC vaccine candidate". *ACS infectious diseases* (2019): 1317-1326

BENEFICIOS DE LA BALNEOTERAPIA EN ARTRITIS REUMATOIDE

María Fernández-González, María Dolores López-Fernández, Fahed Herbawi, Ángela González-Santos, Miguel Ángel Fernández-Gualda, Mario Lozano-Lozano.

RESUMEN: La artritis reumatoide (AR) es la enfermedad reumática inflamatoria más común, afectando a alrededor del 1% de la población mundial. La AR provoca erosiones óseas articulares, deformaciones y un gran dolor para el paciente. Se presentan episodios de bloqueo de las articulaciones, rigidez, aparición nódulos reumatoideos y alta sensibilidad. Los síntomas de la AR hacen de ella una enfermedad incapacitante, con un fuerte impacto en la calidad de vida de los pacientes. Actualmente, se utiliza el tratamiento farmacológico para el control de síntomas, aunque cada vez más se utiliza en combinación con terapias no farmacológicas. Entre otras formas de tratamiento no farmacológico encontramos la balneoterapia, siendo ésta una de las intervenciones más utilizada en la población con patología reumática. El objeto de este trabajo es recabar todo el conocimiento reciente y evaluar la eficacia de la balneoterapia para la mejora de la calidad de vida de los pacientes con artritis reumatoide. Para ello se ha desarrollado una revisión sistemática, realizando búsquedas en las bases de datos MEDLINE, Scopus, Web of Science y The Cochrane Library, incluyéndose un total de 7 artículos. Estos artículos fueron seleccionados mediante dos revisores independientes a través de la eliminación de duplicados y dos cribados, el primero de ellos a razón de título y resumen y el segundo revisando el texto completo. El riesgo de sesgo se midió mediante la herramienta de Cochrane Risk Of Bias Tool 2. La calidad de vida fue la variable elegida para la realización de la revisión sistemática, midiéndose esta variable a través de diferentes herramientas en los diferentes artículos incluidos. Los resultados evidencian que todos los estudios incluidos muestran diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la mejora de la calidad de vida en los pacientes que tuvieron un tratamiento de balneoterapia a pesar de las diferencias en la administración del mismo. A pesar de la variabilidad en la administración del tratamiento, se puede entrever como podría ser un tratamiento protocolizado de balneoterapia, a falta de un estudio de campo que lo corroborara. Este protocolo incluiría unas 15 sesiones con 20 minutos de duración de baños en aguas minerales a unos 35-38 °C, manteniendo, en cualquier caso, el tratamiento farmacológico. En conclusión, podríamos decir que la balneoterapia es beneficiosa para la mejora de la calidad de vida de las personas con artritis reumatoide, aunque la evidencia no demuestra cuál es la mejor forma de administración del tratamiento de balneoterapia.

PERFILES GENÓMICO Y METABOLÓMICO DE LA CEPA DE KIBDELOSPORANGIUM CA-258510, UN NUEVO PRODUCTOR DE COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS

Ignacio González, Sarah Brune, Manuel García, Marina Sánchez-Hidalgo, Daniel Oves-Costales, Jesús Martín, Ignacio Pérez-Victoria, José Rubén Tormo, Mercedes de la Cruz, Olga Genilloud

RESUMEN: Los metabolitos secundarios producidos por microorganismos son uno de los mayores reservorios para el descubrimiento de fármacos a partir de fuentes naturales. En las últimas siete décadas, la búsqueda de productos naturales de microorganismos terrestres ha demostrado que los microbios que habitan en el suelo, y especialmente los Actinomicetos, son una rica fuente de metabolitos secundarios bioactivos, estructuralmente únicos. Los Actinomicetos se han explotado extensivamente para la producción de metabolitos secundarios y aún continúan siendo de enorme interés en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos, dada la gran riqueza aún por descubrir de clústeres de genes biosintéticos (BGCs), revelada por el continuo crecimiento de las bases de datos de secuencias de genomas completos. Con estos antecedentes y como parte de nuestros esfuerzos para identificar nuevas cepas de nichos únicos como potenciales fuentes de productos naturales bioactivos con aplicación en biotecnología y en el descubrimiento de fármacos, hemos enfocado nuestra atención en miembros del género *Kibdelosporangium* que son conocidos productores de una amplia variedad de compuestos tales como híbridos de policétidos-péptidos o glicopéptidos (kibdelomicina, aricidinas, cicloviracinas, kibdelinas, ristocetinas). Para este estudio, seleccionamos una nueva cepa de *Kibdelosporangium* de nuestra colección de microorganismos que fue originalmente aislada de la rizosfera de una planta endémica recolectada en el Cáucaso (República de Georgia). El potencial metabólico de esta cepa se estudió siguiendo una aproximación OSMAC, empleando un conjunto de doce condiciones nutricionales diferentes en combinación con diferentes tiempos de crecimiento y formatos de fermentación para favorecer la producción de metabolitos secundarios que se analizaron mediante LCMS, evaluando los perfiles metabólicos con la herramienta MASS_Studio. Los extractos generados se ensayaron buscando actividades antibacterianas y antifúngicas frente a un panel de patógenos humanos que incluían *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), varias bacterias Gram-negativas, y la levadura *C. albicans*. Por otro lado, el análisis de la secuencia completa del genoma, ha permitido comprobar la riqueza y singularidad de los BGCs de esta cepa, en la que se han detectado varias posibles rutas biosintéticas, incluyendo péptidos sintetizados ribosomalmente y modificados post-traduccionalmente (RiPPs), policétidos y péptidos no ribosomales. Nuestros resultados confirman que la cepa de *Kibdelosporangium* sp. CA-258510 produce nuevos metabolitos bioactivos frente a MRSA así como otros compuestos frente a bacterias Gram-negativas y frente a *C. albicans*, reforzando el interés del género *Kibdelosporangium* como una fuente prometedora para la producción de nuevos metabolitos secundarios bioactivos.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA DEL ANTICUERPO MONOCLONAL TERAPÉUTICO INFLIXIMAB (REMICADE®, INNOVADOR) Y CT-P13 (REMSIMA®, BIOSIMILAR): EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA TERCIARIA POR ESPECTROPOLARIMETRÍA DE DICROÍSMO CIRCULAR EN EL UV CERCANO

Jesús Hermosilla, Raquel Pérez-Robles, Anabel Torrente-López, Antonio Salmerón-García, José Cabeza, Natalia Navas

RESUMEN: La estructura terciaria de un anticuerpo monoclonal (mAb) terapéutico se define como atributo crítico de la calidad, ya que cambios en ella pueden afectar al perfil de eficacia o seguridad del mismo. Los mAbs terapéuticos son inmunoglobulinas cuya acción terapéutica está influenciada por la unión a su diana terapéutica. Esta conformación espacial es mantenida por un delicado balance de fuerzas de atracción y de repulsión que tienen lugar en la macromolécula. Cambios en las condiciones ambientales, que son consecuencia directa del proceso de producción, transporte, almacenamiento, así como de distintas prácticas durante su preparación/administración en hospitales, pueden alterar este balance al inducir modificaciones fisicoquímicas que desencadenen la modificación de la estructura terciaria y consecuentemente de su efectividad. Tales condiciones pueden ser la presencia de luz, cambios en la temperatura o cambios en la fuerza iónica del medio entre muchas otras. Infliximab (Remicade®) es un mAb terapéutico que se emplea en el tratamiento de distintos trastornos autoinmunes como la artritis reumatoide. En estos trastornos se produce un aumento de la citoquina proinflamatoria factor de necrosis tumoral alfa, la cual es neutralizada por este agente terapéutico. Infliximab sigue siendo a día de hoy uno de los biofármacos que más ventas genera. Desde su aprobación, distintos biosimilares han sido aprobados por la EMA, como CT-P13 (Inflectra™/Remsima™). El tratamiento con INF/CT-P13 genera sobrantes diarios, tanto de los medicamentos reconstituidos como de las preparaciones clínicas (diluidas en NaCl al 0,9%), dado que son medicamentos que se administran por peso de paciente, y que dada la breve caducidad indicada en el resumen de las características del producto (RCP), son desechados. Dado el elevado coste asociado a los tratamientos con mAbs surge la necesidad de evaluar la estabilidad de los sobrantes, con la finalidad de extender su tiempo de uso y así hacer un uso más racional de los mismos. También, con el objetivo de evaluar el impacto de la manipulación en la práctica clínica diaria. La espectropolarimetría de Dicroísmo Circular (DC) es una técnica espectroscópica basada en la absorción diferencial de la luz circularmente polarizada a la derecha con respecto a la luz circularmente polarizada a la izquierda por moléculas con residuos quirales, como son las proteínas. Dependiendo de la región del ultravioleta (UV) donde se adquieran los espectros, se obtiene información sobre la estructura secundaria (UV lejano) o terciaria (UV cercano) de las proteínas. La espectropolarimetría de DC en el UV cercano (250-350 nm) es una técnica rápida, sencilla y precisa, por medio de la cual se puede obtener un espectro característico de la estructura terciaria de la proteína estudiada, a modo de huella dactilar, y que es resultado de las contribuciones de los distintos aminoácidos aromáticos y puentes disulfuro. En este trabajo se ha llevado un estudio comparativo de la estabilidad del medicamento innovador (Remicade®, 100 mg infliximab) / medicamento biosimilar (Remsima™, 100 mg CT-P13). En primer lugar, distintas condiciones de degradación forzada fueron aplicadas a los sobrantes de los medicamentos: luz visible, temperatura de 60°C y dilución en un medio hipertónico de NaCl. Posteriormente, se llevaron a cabo varios estudios de estabilidad en el tiempo de los sobrantes, tanto de las disoluciones reconstituidas (10 mg/mL), como de disoluciones clínicas de los mismos (2 y 0,4 mg/mL) almacenadas a 4°C tanto en viales (10 y 2 mg/mL) como en bolsas de poliolefina (0,4 mg/mL). INF/CT-P13 mostraron un comportamiento idéntico tanto al ser sometidos a las diferentes condiciones de degradación acelerada, como en su evolución en el tiempo almacenados a 4°C y oscuridad. Los resultados han indicado que la estructura terciaria se mantiene estable en ambos mAbs durante 14 días, independientemente de la concentración y del material de almacenamiento.

EVALUACIÓN DEL DOLOR POSTOPERATORIO EN EL RATÓN: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FUNCIONALES Y SENSORIALES

Miguel Ángel Huerta Martínez, Miriam Santos Caballero, Makeya Abduljabbar Hasoun, M Carmen Ruiz-Cantero, Rafael González-Cano, Enrique J Cobos

RESUMEN: Más de la mitad de los pacientes que se someten a cirugía experimentan dolor moderado o severo en el postoperatorio inmediato, a pesar del tratamiento analgésico. La laparotomía es el paso inicial para muchas cirugías abdominales (los tipos de cirugías más frecuentes) por lo que podría ser un buen modelo animal para el estudio del dolor postoperatorio, y facilitar en el futuro el desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas para su tratamiento. El objetivo de este trabajo es caracterizar el dolor inducido por la laparotomía en el ratón. Para ello utilizamos ratones de la cepa CD-1. La laparotomía consistió en una incisión de 1,5 cm a lo largo de la línea alba hasta alcanzar la cavidad abdominal. Usamos una sutura discontinua para cerrar la musculatura abdominal y el peritoneo, y un punto de colchonero horizontal para cerrar la piel. Valoramos la hipersensibilidad cutánea, el dolor en reposo, y el dolor inducido por el movimiento, mediante el umbral de von Frey, un algoritmo de inteligencia artificial (el cual analizó las expresiones faciales en registros en vídeo) y el análisis de la actividad exploratoria de los animales (mediante un actímetro de infrarrojos), respectivamente. Las medidas conductuales se realizaron a las 3h tras la cirugía. Las diferencias entre las medias de los grupos experimentales se compararon mediante un ANOVA. En conclusión, los resultados muestran que la laparotomía es un buen modelo para el estudio de las distintas facetas del dolor postoperatorio (hipersensibilidad cutánea, dolor en reposo y dolor en movimiento), y es adecuado para la valoración de fármacos analgésicos.

Agradecimientos: Junta de Andalucía (CTS-109), Agencia Estatal de Investigación (10.13039/501100011033; PID2019-108691RB-I00).

LA DECIDUALIZACIÓN DE LAS CÉLULAS DECIDUALES ESTROMALES HUMANAS INHIBE LA EXPRESIÓN DE QUIMIOCINAS QUE ATRAEN CÉLULAS T CXCR3+ (TH1, TC1). PAPEL EN LA TOLERANCIA INMUNOLÓGICA MATERNO-FETAL

Tatiana Llorca Colomina, Olga María García Valdeavero, Rocío Martínez Aguilar, Lucía Rodríguez Doña, María José Ruiz Magaña, Ana Clara Abadía Molina, Carmen Ruiz Ruiz, Enrique García Olivares

RESUMEN: Las células deciduales estromales (DSC) son las células más abundantes de la decidua humana, que es el tejido que constituye el componente materno de la placenta. Numerosas evidencias confirman que las DSC juegan un papel clave en la tolerancia inmunológica materno-fetal [1]. En el embarazo normal, las DSC sufren un proceso de diferenciación (decidualización) por efecto de la progesterona y otras hormonas. Al decidualizarse las DSC adquieren una morfología redondeada y secretan prolactina, IL-15 y otros factores [2]. En modelo murino, se ha podido observar que, durante el embarazo, las DSC inhiben la expresión de quimiocinas relacionadas con la atracción desde la sangre periférica hacia la decidua de células Th1 y Tc1, las cuales presentan actividad abortígena [3]. Partiendo de estos resultados previos, este trabajo tiene como objetivo analizar los efectos del proceso de decidualización en la expresión en DSC humanas de quimiocinas que atraen células T a la decidua. Para ello, hemos obtenido líneas celulares de DSC, que han sido decidualizadas in vitro por medio de la adición de progesterona y AMPc al medio de cultivo. Estudiamos, mediante RT-PCR, la diferencia de expresión de quimiocinas entre DSC no decidualizadas y las decidualizadas. Pudimos comprobar que las quimiocinas que se unen a CXCR3, receptor expresado por Th1 y Tc1 activadas, o bien no se expresan en estas células, como es el caso de CXCL9, o bien se inhibe su expresión en DSC decidualizadas, como se observa para CXCL10 ($P < 0.01$) y CXCL11 ($P < 0.05$). Con el fin de comprobar el efecto de estos factores secretados por DSC sobre células T, hemos obtenido linfocitos de sangre periférica (PBL) que han sido activados con PHA + anti-CD28 y mantenidos en cultivo durante 6 días, añadiendo IL-2 cada 48 horas. Estos linfocitos activados son CXCR3+, estando integrados por un 30% (± 9.2) de células CD3+CD4+ (Th1), un 55% (± 7.2) de células CD3+CD8+ (Tc1) y un 9% (± 3.2) de linfocitos NK CD56+. Además, hemos estudiado la capacidad de migración de estos linfocitos activados, en cámaras Transwell, con medios condicionados de DSC no decidualizadas y decidualizadas. Como resultado, hemos visto que los medios condicionados de DSC no decidualizadas disminuyen la migración de linfocitos T activados CXCR3+ (Th1 y Tc1) ($P < 0.05$) y este efecto se potencia con el medio condicionado de DSC decidualizadas ($P < 0.001$). Estos resultados demuestran que el proceso de decidualización durante el embarazo inhibe la expresión en las DSC de quimiocinas que atraen células Th1 y Tc1, por lo que se evita la llegada de célula T abortígenas a la decidua, siendo este un mecanismo dentro de la tolerancia inmunológica materno-fetal.

[1] Vacca P, Montaldo E, Vitale C, Croxatto D, Moretta L, Mingari MC. MSC and innate immune cell interactions: A lesson from human decidua. *Immunology Letters*. 2015, 168(2): 170-4. DOI:10.1016/j.imlet.2015.05.006 [2] Richards RG, Brar AK, Frank GR, Hartman SM, Jikihara H. Fibroblast cells from term human decidua closely resemble endometrial stromal cells: induction of prolactin and insulin-like growth factor binding protein-1 expression. *Biology of Reproduction*. 1995, 52(3): 609-15. DOI:10.1095/biolreprod52.3.609 [3] Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. *Science*. 2012, 336(6086): 1317-21. DOI: 10.1126/science.1220030

IMPACTO DEL PROBIÓTICO LIMOSILACTOBACILLUS FERMENTUM CECT5716 EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CÁNCER ASOCIADO A COLITIS: EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTITUMORAL Y ANTIINFLAMATORIO

Molina-Tijeras, Jose Alberto (1,2); Ruiz-Malagón, Antonio Jesús (1,2); Hidalgo-García, Laura (1,2); Díez-Echave, Patricia (1,2); Rodríguez-Sojo, María Jesús (1,2); Vezza, Teresa (1); Bañuelos, Oscar (3); Olivares, Mónica (3); Rodríguez-Cabezas, María Elena (1,2); Rodríguez-Nogales, Alba (1,2); Gálvez, Julio (1,2,4).

1. Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, España. 3. Biosearch Life, 18004 Granada, España. 4. Centro de Investigación Biomédica en Red – Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER-EHD).

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) constituye el tercer cáncer más común, y representa el segundo con mayor número de muertes relacionadas con cáncer en todo el mundo. Diversos estudios reconocen la existencia de un mayor riesgo de padecer CCR en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII). En este sentido, el inicio y desarrollo del proceso tumoral se ve favorecido por la existencia de una inflamación crónica, con aumento en la expresión de numerosos mediadores pro-inflamatorios, como son la interleucina (IL) 1 β o la quimiocina CCL2, que favorecen la expresión de factores anti-apoptóticos. Por otra parte, el desarrollo de EII se asocia con una disbiosis intestinal, es decir, con una alteración en la composición y/o función de la microbiota intestinal, situación que también se ha propuesto desempeñar un papel crucial en el origen y progresión del CCR. Los probióticos son microorganismos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un efecto beneficioso en la salud del hospedador. Se ha propuesto que la administración de probióticos puede ejercer estos efectos mediante la modulación de la microbiota intestinal, mejorando así la situación de disbiosis que pueda aparecer en enfermedades como la EII y el CCR. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del probiótico *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 en un modelo experimental de cáncer asociado a colitis (CAC). Para ello, se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6J a los que se indujo CAC mediante la administración de azoximetano (AOM; 10 mg/kg; i.p.) y de 3 ciclos de sulfato de dextrano sódico (DSS; 2.5% (p/v)) en el agua de bebida durante 5 días, con 14 días de descanso entre cada ciclo. Un grupo experimental fue tratado con *L. fermentum* (5x10⁸ UFC/ratón/día) durante 12 semanas. La evolución del peso corporal e índice de actividad de la enfermedad (DAI) fue evaluado diariamente, y al final del ensayo se analizó el efecto antitumoral y antiinflamatorio derivado de la administración del probiótico, tanto macroscópicamente, mediante la determinación del número y tamaño de tumores, como bioquímicamente, con la valoración de la expresión de diferentes marcadores por Western Blotting y por citometría de flujo. La administración de *L. fermentum* redujo significativamente la pérdida de peso y el incremento en los valores del DAI, que se asocia con el desarrollo del proceso tumoral, junto con una reducción significativa del número de tumores en comparación con el grupo control sin tratamiento. Bioquímicamente, este efecto beneficioso se asoció con la activación de la vía AKT/PI3K/Beclina 1 implicada en la autofagia celular. También se observó una mejora del proceso inflamatorio asociado al desarrollo tumoral, por una reducción de la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y del inflammasoma NLRP3. Por último, *L. fermentum* moduló la respuesta inmunitaria alterada en este modelo de cáncer experimental al promover la reducción de monocitos clásicos (CD64+ CX3CRI-) y no clásicos (CD64+ CX3CRI+) en sangre. En conclusión, *L. fermentum* ejerce efectos beneficiosos frente al desarrollo tumoral asociado a la inflamación intestinal, probablemente derivados de su actividad antiinflamatoria y de sus propiedades inmunomoduladoras.

ACTIVACIÓN DE LOS INFLAMASOMAS NLRP-3 Y AIM-2 EN LA ENFERMEDAD PERI-IMPLANTARIA

Saray Montalvo-Acosta; Natividad Martin-Morales; Sarmad Muayad-Rashid; Darío Abril-García; Ana Carrillo-Gálvez; Francisco O'Valle; Miguel Padial-Molina; Pablo Galindo-Moreno.

RESUMEN: En el world Workshop sobre la enfermedad periodontal y peri-implantaria celebrado en 2017 se clasificó la peri-implantitis como “una patología asociada a placa bacteriana que ocurre en los tejidos alrededor del implante.” La inflamación en la mucosa peri-implantaria y la pérdida progresiva del hueso alrededor del implante está mediada por la respuesta inflamatoria del huésped. Recientemente se ha demostrado que la presencia de los iones de implante también puede desencadenar las vías de activación inflamatoria. Los inflamasomas son un complejo multiproteico que hace parte del sistema inmunitario innato y están implicados en la respuesta inmune que conducen a la secreción de citocinas maduras asociada a la progresión de la peri-implantitis. Algunos receptores de reconocimiento de patrones (PRR) ensamblan inflamasomas como respuesta a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o patrones moleculares asociados a daños (DAMP). Esto promueve la liberación de citocinas proinflamatorias, principalmente a través de la producción de interleucinas (IL) 1- β y 18 inducida por caspasas. El objetivo de este estudio es identificar la expresión de los componentes del inflamasoma en pacientes con peri-implantitis. Para ello se realizó un estudio transversal con pacientes diagnosticados con peri-implantitis del departamento de cirugía e Implantología oral en la facultad de odontología de la universidad de Granada. Los controles fueron clasificados como pacientes sanos o estables periodontales cuya indicación de extracción dental fue por razones ortodónticas o por destrucción coronal por caries. Las biopsias fueron incluidas en formalina al 10% y procesadas para su evaluación. Para el estudio morfológico se realizaron tinciones con hematoxilina, tricrómico de Masson y pentacrómico modificado de Movat. El análisis inmunohistoquímico fue realizado con anticuerpos policlonales frente a NLRP3, AIM-2, Caspasa-1 e Interleuquina 1 β . Para el análisis por qPCR, el RNA fue extraído con Trizol plus RNA kit (Invitrogen, Gran Island, NY) y el total de RNA fue cuantificado en un Nanodrop. En el estudio fueron incluidas 33 muestras de peri-implantitis y 15 controles no periodontales. Los participantes se distribuyeron en 19 mujeres y 13 hombres con una edad media de 59.1+/-7.5. En el análisis morfológico se observó que el infiltrado inflamatorio de las muestras con peri-implantitis fue estadísticamente significativo comparadas con los controles. Las células inflamatorias estaban compuestas principalmente por linfocitos B, células plasmáticas y neutrófilos. La evaluación inmunohistoquímica mostró que los componentes del inflamasomas presentan una alta expresión en la lámina propia y el epitelio en las biopsias de los casos de peri-implantitis y esta expresión se correlacionó con la severidad de la enfermedad. Resultados superponibles se confirmaron por los análisis mediante qPCR. El conclusión, en el estudio se describe por primera vez la activación del inflamasoma en enfermedad peri-implantaria en especial la expresión de AIM2 no descrita en enfermedad periodontal humana.

DESCUBRIMIENTO DE GARGANTULIDAS B Y C, NUEVAS MACROLACTONAS DE 52 MIEMBROS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA AISLADAS DE AMYCOLATOPSIS SP. ESTEREOQUÍMICA ABSOLUTA COMPLETA DE LA FAMILIA DE GARGANTULIDAS

Daniel Carretero-Molina (1), Francisco Javier Ortiz-López (1), Tetiana Gren (2), Daniel Oves-Costales (1), Jesús Martín (1), Fernando Román-Hurtado (1), Tue Sparholt Jørgensen (2), Mercedes de la Cruz (1), Caridad Díaz (1), Francisca Vicente (1), Kai Blin (2), Fernando Reyes (1), Tilmann Weber (2), Olga Genilloud (1).

1. Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Avda. del Conocimiento 34, 18016 Armilla (Granada), Spain. 2. The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark, Kemitorvet, building 220, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark.

RESUMEN: Los productos naturales continúan siendo una fuente de estructuras químicas privilegiadas y actividades biológicas destacadas que pueden resultar clave para abordar necesidades clínicas urgentes [1]. Entre ellos, los macrólidos [2] son una clase estructural particularmente amplia de metabolitos secundarios producidos principalmente por actinomicetos [3] y codificados por grupos de genes biosintéticos (BGC) multimodulares de tipo policétido-sintasa I (TIPKS). Uno de los macrólidos más conocidos es la eritromicina, no sólo como agente antibacteriano, sino también como modelo para estudiar la biosíntesis de otros antibióticos de tipo macrólido [4]. Otros miembros clínicamente relevantes de esta clase son, por ejemplo, la anfotericina B, la avermectina o la rapamicina, que abarcan desde actividades antimicrobianas o insecticidas hasta inmunosupresoras [2,5]. Durante una campaña de cribado de alto rendimiento (HTS) en el área de antiinfectivos, los extractos del cultivo de la cepa *Amycolatopsis* sp. CA-230715 mostraron actividad antibacteriana frente a diferentes patógenos Gram-positivos y Gram-negativos. Un proceso de aislamiento guiado por bioactividad condujo al aislamiento de las gargantulidas B (1) y C (2), dos nuevas y gigantes macrolactonas glicosiladas relacionadas con su congénere anteriormente aislado, gargantulida A (3) [6]. Las estructuras planas de estos nuevos macrólidos bioactivos fueron completamente elucidadas mediante espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y espectroscopía de RMN 1D/2D, revelándose como macrolactonas de 52 miembros y cadena lateral de 22 miembros, al igual que gargantulida A, pero presentando glicosilaciones adicionales con b-D-glucosa y/o a-D-arabinofuranosa en sus esqueletos de tipo policétido. El BGC responsable de la biosíntesis de gargantulidas B y C (gar) se identificó en el genoma de la cepa productora, lo que nos permitió establecer por primera vez una evidencia genética para la biosíntesis de esta interesante clase de compuestos. Dicho grupo de genes, con un tamaño excepcionalmente grande 216 kbp, codifica 10 enzimas de tipo TIPKS que comprenden 35 módulos, representando así el mayor BGC codificador de macrólido descubierto hasta ahora. Adicionalmente, se encuentran en dicho BGC un conjunto de genes presuntamente responsables de la biosíntesis del aminoazúcar 3,6-deoxi-3-metilamino glucosa (maG), que ha sido descrito exclusivamente en gargantulidas A-C. La integración de los datos genómicos procedentes del análisis bioinformático de las enzimas TIPKS y el análisis exhaustivo mediante RMN nos permitió asignar la estereoquímica absoluta completa de gargantulidas B y C, así como revisar y completar la de gargantulida A. Las gargantulidas B y C mostraron una actividad antibacteriana potente (MIC 1-4 ug/mL) frente a diferentes patógenos Gram-positivos como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) o *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina (VRE), y una actividad moderada (MIC 16 ug/mL) frente al patógeno Gram-negativo *Acinetobacter baumannii*.

[1] A. G. Atanasov, S. B. Zotchev, V. M. Dirsch and C. T. Supuran, Natural products in drug discovery: advances and opportunities, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2021, 20, 200–216. [2] S. Omura, *Macrolide Antibiotics*, Elsevier, 2003. [3] O. Genilloud, *Actinomycetes: Still a source of novel antibiotics*, *Nat. Prod. Rep.*, 2017, 34, 1203–1232. [4] H. L. Robertsen and E. M. Musiol-Kroll, *Actinomycete-derived polyketides as a source of antibiotics and lead structures for the development of new antimicrobial drugs*, *Antibiotics*, DOI:10.3390/antibiotics8040157. [5] G. P. Dinos, *The macrolide antibiotic renaissance*, *Br. J. Pharmacol.*, 2017, 174, 2967–2983. [6] J. R. Rho, G. Subramaniam, H. Choi, E. H. Kim, S. P. Ng, K. Yoganathan, S. Ng, A. D. Buss, M. S. Butler and W. H. Gerwick, *Gargantulide A, a complex 52-membered macrolactone showing antibacterial activity from streptomyces sp.*, *Org. Lett.*, 2015, 17, 1377–1380.

IDENTIFICACIÓN, CLONACIÓN Y EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE LA RUTA BIOSINTÉTICA DE GLOBOMICINA

Daniel Oves-Costales, Tetiana Gren, Jesus Martín, Xinglin Jiang, Eva Baggesgaard Sterndorff, Francisco Javier Ortiz-López, Tue S. Jørgensen, Fernando Román-Hurtado, Olga Genilloud, Tilmann Weber

RESUMEN: La globomicina y congéneres es una familia de lipodepsipeptidos cíclicos con gran actividad frente a patógenos Gram-negativos [1]. Su modo de acción está basado en la unión al sitio activo de LspA, interfiriendo así en la vía de secreción de lipoproteínas. Sorprendentemente su ruta biosintética no ha sido identificada hasta la fecha. Como parte de nuestro trabajo en la búsqueda de nuevos productos naturales con actividad frente a patógenos Gram-negativos, identificamos a la cepa *Streptomyces* sp. CA-278952 como productor de globomicina, y nos marcamos como objetivo la identificación de su ruta biosintética. El genoma de la cepa CA-278952 se secuenció mediante PacBio (Macrogen Inc. South Korea) para obtener un único contig de más de 8 Mbp. El análisis del genoma mediante AntiSMASH identificó 23 regiones potencialmente responsables de la biosíntesis de metabolitos secundarios [2]. Un análisis retrobiosintético de la globomicina nos permitió seleccionar una ruta híbrida NRPS / PKS como la más probable para su biosíntesis. Para demostrar que realmente dicha ruta híbrida NRPS / PKS es responsable de la biosíntesis de globomicina se procedió a generar un mutante nulo mediante la inserción de un codón STOP en el gen *globH* empleando CRISPR-cBEST, dando lugar por tanto a una proteína *GlobH* truncada no funcional [3]. El análisis mediante LC-MS de los extractos de fermentación de este mutante nulo mostraron la ausencia completa de globomicina y congéneres. Para complementar estos resultados nos marcamos como objetivo la expresión heteróloga de la ruta biosintética de la globomicina. Para ello, la agrupación génica se clonó en el vector pXJ157 usando una variante del método CATCH y mediante conjugación biparental se introdujo en ocho hospedadores heterólogos (*S. albus* J1074, *S. coelicolor* M1146, *S. griseofuscus* wt, dos cepas de *S. griseofuscus* que carecen de plásmidos nativos, *Streptomyces* sp. NBC10103, *Streptomyces* sp. NBC01270 y *Streptomyces* NBC01171) [4]. Todos los hospedadores heterólogos, sus correspondientes controles negativos y el control positivo *Streptomyces* sp. CA-278952 se crecieron en una batería de medios de fermentación, y los correspondientes extractos microbianos se analizaron mediante LC-MS. La globomicina y congéneres se detectaron en *S. albus* J1074 y *S. coelicolor* M1146, demostrando así de forma inequívoca que la ruta biosintética clonada es responsable de su biosíntesis. En resumen: hemos identificado la agrupación génica responsable de la biosíntesis de globomicina y congéneres y llevado a cabo su expresión heteróloga en dos hospedadores. Nuestros resultados pueden sentar las bases para la generación de nuevos análogos de la globomicina con propiedades biológicas mejoradas.

[1] Inukai, M., Enokita, R., Torikata, A., Nakahara, M., Iwado, S., Arai, M. J. *Antibiot.* 1978, 31, 410-420 [2] Blin, K., Shaw, S., Kloosterman, A. M., Charlop-Powers, Z., van Weezel, G. P., Medema, M. H., Weber, T. 2021, *Nucl. Acids Res.* doi: 10.1093/nar/gkab335 [3] Tong, Y., Whitford, C. M., Blin, K., Jørgensen, T. S., Weber, T. *Nat. Protoc.* 2020, 15, 2470-2502 [4] Jiang, W., Zhao, X., Gabrieli, T., Lou, C., Ebenstein, Y., Zhu, T. F. *Nat. Commun.* 2015, 6:8101

EVALUACIÓN DE FUNCIÓN BARRERA EPIDÉRMICA Y HOMEOSTASIS CUTÁNEA DE CREMA DERMCONTROL EN PACIENTES SANOS

Trinidad Montero Vílchez, Ana Leticia Jiménez Escobar, Ana de la Cruz Fernández, Almudena Gómez Farto, Noelia Pérez González, Salvador Arias Santiago

RESUMEN: En el marco de un proyecto FEDER ININTERCONECTA, se han recuperado y valorizado componentes del orujillo generado en el proceso de obtención de aceite de oliva. Las materias primas recuperadas son polifenoles con un claro efecto antioxidante y nanocelulosas empleadas como componente de recubrimiento para diseñar micropartículas que mejoren la estabilidad de ingredientes sensibles a la degradación. Se ha desarrollado una formulación para tratamiento de dermatitis atópica que incluye diferentes componentes activos entre los que se incluyen polifenoles, factor de crecimiento y ácido hialurónico. El ácido hialurónico es una molécula que se encuentra en la epidermis y es importante para mantener la estructura normal del estrato córneo y la función de barrera epidérmica. Las alteraciones en la barrera epidérmica facilitan la penetración de alérgenos a través de la piel y su interacción con las células locales de presentación de antígenos y células inmunitarias, incrementando el riesgo de desarrollar enfermedades cutáneas como la dermatitis atópica. El objetivo del estudio fue evaluar los cambios en la función de la barrera epidérmica y la homeostasis cutánea tras el uso de DermControl. Se diseñó un ensayo clínico controlado y aleatorio con 30 voluntarios sanos del Hospital Virgen de las Nieves de Granada. Los pacientes fueron asignados a aplicar durante una semana en uno de sus brazos, dejando el otro de control, DermControl. Los parámetros a evaluar fueron: pérdida transepidérmica de agua (TEWL), hidratación del estrato córneo (SCH), temperatura, eritema, melanina, pH y elasticidad. Tras el estudio se observó que en el brazo donde se aplicó la crema se produjo un incremento en la hidratación del estrato córneo y en la elasticidad. Al comparar ambos brazos, se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la hidratación del estrato córneo y la temperatura y cambios con tendencia a la significación en la TEWL y en la elasticidad. DermControl mejora la función de la barrera epidérmica en voluntarios sanos, lo que se ve reflejado principalmente en un incremento de la hidratación del estrato córneo.

REVISIÓN DE LA ESTEREOQUÍMICA ABSOLUTA DEL ANTIBIÓTICO TELOMICINA EN BASE A LA SECUENCIA DE SU NRPS Y A LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS QUIRAL DE SUS AMINOÁCIDOS

Ignacio Pérez-Victoria, Sandra Resa, Marta González, Fernando Reyes

RESUMEN: Las bacterias patógenas resistentes a antibióticos suponen una amenaza para la salud y el desarrollo mundiales. La OMS ha declarado que la resistencia a los antimicrobianos es una de las diez principales amenazas de salud pública a las que se enfrenta la humanidad. La propagación de bacterias que han adquirido nuevos mecanismos de resistencia a antibióticos está comprometiendo nuestra capacidad para tratar infecciones comunes. Es especialmente alarmante la rápida propagación mundial de bacterias multirresistentes y panresistentes (denominadas también «superbacterias») que provocan infecciones que no pueden tratarse con los antibióticos clásicos [1]. Una de las actuaciones para hacer frente a esta problemática consiste en aumentar el repertorio de antibióticos, incluyendo compuestos con modos de acción menos explorados. Para este fin, las investigaciones enfocadas en el descubrimiento de nuevos antimicrobianos o la revisión de antibióticos descubiertos hace décadas, pero no estudiados en profundidad, son fundamentales. En esta última línea se encuadra el antibiótico telomicina, un péptido no ribosómico descubierto a finales de los años 50 del pasado siglo que presenta una potente actividad bactericida frente a diversos patógenos Gram-positivo [2]. Recientemente, se ha demostrado que presenta un modo de acción novedoso con diana en la membrana plasmática basado en una interacción específica con el fosfolípido cardiolipina [3]. Interesados en la caracterización molecular de esta interacción telomicina-cardiolipina, hemos revisado la bibliografía sobre telomicina así como los datos publicados sobre el grupo de genes biosintéticos que codifican su producción en *Streptomyces canus* ATCC 12647 [3, 4]. La revisión de estos datos ha puesto de manifiesto una serie de discrepancias entre la secuencia de la NRPS (sintetasa de péptido no ribosómico) encargada de su biosíntesis y la estructura química descrita, en la que todos los aminoácidos tienen configuración absoluta L-. El análisis bioinformático de la NRPS muestra la presencia de dos dominios de epimerización (E) en dos módulos diferentes de la NRPS, que sugieren la presencia de dos aminoácidos con configuración D- en la estructura de telomicina. Hemos llevado a cabo un análisis filogenético de los distintos dominios de condensación (C) en la NRPS. Dicho análisis ha mostrado que los dominios C de todos los módulos de la NRPS reconocen estereoespecíficamente aminoácidos L- salvo dos dominios C que reconocen estereoespecíficamente aminoácidos D- y se encuentran en los módulos situados aguas abajo de aquellos que contienen los dominios E de epimerización. Este análisis bioinformático y filogenético demuestra inequívocamente que la telomicina contiene dos aminoácidos con configuración absoluta D- e indica cuales son. La corroboración experimental definitiva la hemos podido obtener mediante análisis quiral de aminoácidos utilizando el método de Marfey avanzado [5] sobre la mezcla de aminoácidos obtenida tras hidrólisis ácida de la telomicina. Esta revisión de la estereoquímica absoluta de la telomicina nos va a permitir determinar próximamente su conformación y estructura tridimensional en disolución mediante Resonancia Magnética Nuclear, así como su interacción a nivel molecular con liposomas ricos en cardiolipina utilizando esta misma técnica espectroscópica. Los datos que obtengamos serán muy útiles en el propio desarrollo de la telomicina como antibiótico y en el diseño y generación de nuevos análogos con propiedades antibióticas optimizadas.

[1] www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance [2] M. Misiek et al. 1957-1958. 5, 852-855. [3] C. W. Johnston et al. Nat. Chem. Biol. 2016. 12, 233-239. [4] C. Fu et al. J. Am. Chem. Soc. 2015. 137, 7692-705. [5] K. Fujiii et al. Anal. Chem. 1997, 69, 3346-3352.

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL RECEPTOR PARA ANTÍGENOS DE LINFOCITOS T $\gamma\delta$

Alonso Rodríguez-Caparrós (1), Shizue Tani-ichi (2), Jennifer López-Ros (1), Koichi Ikuta (2), and Cristina Hernández-Munain(1)

1. Department of Cellular Biology and Immunology, Institute of Parasitology and Biomedicine "López-Neyra" - Spanish National Research Council (IPBLN-CSIC), Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS), 18016-Granada, Spain
2. Laboratory of Immune Regulation, Department of Virus Research, Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8587, Japan

RESUMEN: Los linfocitos T $\gamma\delta$ juegan un papel esencial en la respuesta inmunitaria mediante la rápida producción de grandes cantidades de citoquinas, teniendo gran importancia en la respuesta inmunitaria frente a determinados patógenos y en la protección en determinados lugares anatómicos. Estas células expresan un receptor de antígeno (T cell receptor, TCR) formado por las cadenas TCR γ y TCR δ capaz de reconocer antígenos no peptídicos. Además de esta función en defensa frente a determinadas infecciones, se han revelado otras importantes funciones para estas células en la homeostasis de tejidos, tales como en termogénesis, regeneración ósea y plasticidad sináptica. Sin embargo, el proceso de cómo estas células se generan y, en especial, cómo se regula la transcripción de los genes de las cadenas TCR γ y TCR δ durante el desarrollo no se ha clarificado hasta el momento. Nuestros datos (PMID: 30877169) indican que los potenciadores transcripcionales necesarios para la expresión de las cadenas TCR γ y TCR δ dependen de las señalizaciones mediadas por Notch (a través de RUNX1 y MYB) e interleuquina 7 (a través de STAT5) durante el desarrollo de los linfocitos T $\gamma\delta$.

ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA CELULAR EFECTORA Y REGULADORA ESPECÍFICA EN PACIENTES ALÉRGICOS AL VENENO DE ABEJA O AL POLEN DE OLIVO DE FENOTIPO GRAVE CON REACCIONES SISTÉMICAS DURANTE LA INMUNOTERAPIA

María José Rodríguez Sánchez (1,2), Ana Molina Bueno (3), María Salas Casinello (3), Cristobalina Mayorga Mayorga (3), Julio Gálvez (1,2,4), Alba Rodríguez Nogales (1,2).

1. Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, España. 3. Unidad de Alergia. Hospital Regional Universitario de Málaga-IBIMA, Málaga, España. 4. Centro de Investigación Biomédica en Red – Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER-EHD).

RESUMEN: En los últimos años, se viene detectando la existencia de un fenotipo grave de pacientes alérgicos a veneno de abeja o a polen de olivo que presentan reacciones sistémicas severas tras la administración de inmunoterapia específica (ITE) y responden mal a la misma. Esto supone un difícil manejo terapéutico para dichos pacientes y, por consiguiente, genera un problema de salud importante. Tanto en el caso de las reacciones alérgicas al veneno de abeja como a las de olivo, los fenotipos graves podrían relacionarse con la existencia de una sensibilización más compleja, la cual incluye alérgenos minoritarios que pueden estar mal controlados en los extractos utilizados para ITE, pero este factor por sí solo no podría justificar la totalidad de los casos. Como se ha observado anteriormente en estudios de rinitis o asma alérgica, se sospecha que estos pacientes podrían presentar un perfil endotípico diferencial de sensibilización, el cual puede expresarse, entre otros, a nivel inmunológico. Por ello, sería razonable pensar que esto pudiera deberse a un desequilibrio en la respuesta celular inmunológica específica (respuesta efectora vs respuesta reguladora). Por lo tanto, centramos nuestro objetivo en estudiar estas diferencias inmunológicas entre pacientes alérgicos con fenotipo grave y reacciones sistémicas a la ITE y pacientes alérgicos sin reacciones. Con ello pretendemos además lograr la identificación de biomarcadores tempranos, lo cual supondría un gran avance en el manejo clínico de dichos pacientes y en el desarrollo de una nueva intervención terapéutica específica y segura. Para llevar a cabo este estudio diferenciamos dos grupos de individuos. Por un lado estudiamos pacientes alérgicos a veneno de abeja o polen de olivo que hayan sufrido al menos una reacción anafiláctica tras recibir ITE (Casos) y por otro, pacientes alérgicos que hayan tolerado y respondido bien a la ITE (Controles). De ambos grupos de pacientes medimos los niveles de IgE específica en suero y analizamos la activación de los basófilos y la respuesta proliferativa específica de subpoblaciones linfocitarias con fenotipo efector (Th1/Th2/Th9) y regulador (Treg/Breg) frente a varios componentes alergénicos de veneno de abeja (Api m 1, Api m 2, Api m4, Api m 10) o polen de olivo (Ole e 1, Ole e 3, Ole e 7 y Olea). Los resultados obtenidos muestran una respuesta linfocitaria que se declina hacia un fenotipo efector en el caso de los pacientes que sufren reacciones sistémicas al recibir la ITE. Esto se acompaña de un descenso en las poblaciones reguladoras estudiadas cuando los comparamos con pacientes que toleran bien la ITE. Encontramos además una mayor reactividad de los basófilos a gran parte de los componentes alergénicos tanto de polen de olivo como de veneno de abeja cuando comparamos los casos con el grupo control. En cuanto a los niveles séricos de IgE específica, los resultados muestran niveles significativamente más elevados en casos que en controles. Todos estos hallazgos nos llevan a pensar que los pacientes alérgicos a veneno de abeja o a polen de olivo que tienen un fenotipo grave y presentan reacciones sistémicas durante la administración de ITE, efectivamente cuentan con un perfil diferencial respecto a los pacientes que son tratados sin ningún efecto adverso. A pesar de que en este estudio hemos podido comprobar que este perfil puede ser expresado mediante una respuesta inmunológica específica, serían necesarios estudios a nivel metabólico y transcriptómico para tener un análisis más completo del comportamiento de dicho perfil endotípico.

IDENTIFICACIÓN Y EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE LA RUTA BIOSINTÉTICA DE CACAODINA, EL PRIMER LANTIPÉPTIDO DE CLASE V

Fernando Román-Hurtado, Marina Sánchez-Hidalgo; Francisco Javier Ortiz-López, Jesús Martín y Olga Genilloud

RESUMEN: El potencial metabólico de los actinomicetos convierte a estas bacterias en una de las fuentes más prometedoras en la búsqueda de nuevos antibióticos, necesarios para reducir el continuo incremento de las resistencias a antibióticos por parte de muchos patógenos. El género *Streptomyces* es uno de los más prolíficos y produce alrededor del 70-80% de los productos naturales descritos con propiedades terapéuticas [1]. Las nuevas herramientas de secuenciación masiva han permitido secuenciar más 15.000 genomas de la clase Actinobacteria cuyo análisis bioinformático (Genome Mining) ha permitido caracterizar un elevado número de rutas responsables de la biosíntesis de metabolitos secundarios, confirmando el potencial biosintético de este grupo de microorganismos [2]. Como resultado del continuo esfuerzo de la Fundación MEDINA en el descubrimiento de nuevas moléculas bioactivas de origen microbiano, se descubrió la cacaoidina, el primer lantipéptido descrito de clase V, producido por la cepa *Streptomyces cacaoi* CA-170360 y con actividad frente a patógenos Gram-positivos como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Clostridiodes difficile*. La cacaoidina posee rasgos estructurales comunes con las familias de los lantipéptidos y las linaridinas, como la presencia de anillos de lantionina y AviMe-Cys, pero se caracteriza por una dimetilación de un residuo de alanina en el extremo amino terminal, un número inusualmente elevado de D-aminoácidos o la glicosilación en un residuo de tirosina con un disacárido no descrito hasta el momento en ningún otro producto natural [3]. El genoma de la cepa *S. cacaoi* CA-170360 se secuenció usando la estrategia combinada de Illumina HiSeq 2500 y PacBio RSII y se analizó con diferentes herramientas bioinformáticas antiSMASH, BAGEL, PRISM o RiPPMiner, sin poder identificarse la ruta biosintética de cacaoidina. Utilizando la secuencia aminoacídica del extremo carboxilo terminal (TASWGC) se encontró una ORF de 162 pb, correspondiente al gen estructural *caoA*, que codifica un péptido estructural de 23 aminoácidos y un péptido líder de 30 aminoácidos y que ayudó a la elucidación de la estructural final de cacaoidina [4]. A partir del gen estructural, y considerando las características estructurales de la molécula [3], se propuso una posible ruta biosintética *cao* de unas 30 Kb (GenBank MT210103) que contenía 27 ORFs cuyas funciones se determinaron mediante análisis BLAST y HHpred. Sorprendentemente, ninguna de las ORF mostraba una homología alta con otras proteínas conocidas que participan en la biosíntesis de lantipéptidos. Para confirmar que esta ruta biosintética *cao* es la responsable de la producción de cacaoidina, se clonó en el vector pCAP01 mediante CATCH (Cas9-Assisted Targeting of Chromosome), dando lugar a la construcción pCAO que se introdujo en el hospedador heterólogo *Streptomyces albus* J1074 por conjugación triparental. Los transconjugantes positivos seleccionados se fermentaron en tubos de 10 mL de medio R2YE durante 13 días y se extrajeron con acetona, obteniéndose unos extractos acuosos al 20% DMSO. Estos extractos se analizaron por LC-HRESIMS(+)-TOF y MS/MS confirmándose la presencia de picos a 3.35 min, tiempo de retención estándar de cacaoidina, la perfecta correlación entre el espectro de UV, la masa, la distribución isotópica y los patrones de fragmentación de MS/MS que demostraron la producción de cacaoidina en el hospedador heterólogo *S. albus* J1074/pCAO, y que la ruta establecida es la responsable de su producción [4].

[1] Genilloud, O. (2017). *Nat. Prod. Rep.* 34:1203-1232. [2] Genilloud, O. (2018). *Antibiotics (Basel)*. 7:85. [3] Ortiz-López, FJ., et al. (2020). *Angew. Chem. Int. Ed.* 59, 12654-12658 [4] Román-Hurtado, F., et al. (2020). *Antibiotics*. 10:403.

GENOME MINING EN LA FUNDACION MEDINA: IDENTIFICACIÓN DE LAS RUTAS DE BIOSÍNTESIS DE MOLÉCULAS PROMETEDORAS

Marina Sánchez-Hidalgo, Fernando Román-Hurtado, Daniel Oves-Costales, José Miguel Quesada, Olga Genilloud

RESUMEN: Los productos naturales o metabolitos secundarios son pequeñas moléculas no esenciales producidas por plantas, microorganismos e invertebrados. Los actinobacterias producen más del 70% de todos los productos naturales utilizados para desarrollar moléculas antiinfecciosas con relevancia clínica [1]. El gran desarrollo de tecnologías de secuenciación de última generación (NGS) a principios del siglo XXI ha revitalizado la búsqueda de nuevos productos naturales bioactivos. La secuenciación de genomas ha revelado que las actinobacterias y otros microorganismos poseen el potencial para producir muchos más productos naturales que los que se detectan en condiciones de laboratorio. Este potencial biosintético codificado por el genoma se puede desbloquear utilizando diferentes enfoques genéticos moleculares en una estrategia que se conoce como minería genómica o genome mining [2], que además ha sido impulsada por el continuo desarrollo de herramientas bioinformáticas y bases de datos para la búsqueda y anotación automatizada de rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios, tales como antiSMASH [3], MIBiG [4] o PRISM [5]. La Fundación MEDINA es un centro de investigación sin ánimo de lucro enfocado en el descubrimiento de moléculas bioactivas candidatas a fármacos o productos de alto valor biotecnológico para dar respuesta a necesidades médicas e industriales no cubiertas hasta ahora. MEDINA posee una de las colecciones microbianas y una de las librerías de productos naturales más grandes del mundo, que abarcan un amplio espacio químico y provienen de fuentes microbianas muy diversas obtenidas de muestras de un amplio rango de orígenes geográficos. En este trabajo describimos la identificación y expresión heteróloga de las rutas de biosíntesis de distintas moléculas con potencial interés terapéutico a partir de la secuenciación de genomas de la colección microbiana de Fundación MEDINA.

[1] Genilloud, O. (2017). *Nat. Prod. Rep.* 34:1203-1232. [2] Zerikly, M. and Challis, G.L. (2009). *ChemBioChem.* 10, 625-633. [3] Weber, T. et al. (2015). *Nucleic Acids Res.* 43, W237-43. [4] Medema, M.H. et al. (2015). *Nat. Chem. Biol.* 11, 625-631. [5] Skinnider, M.A. et al. (2015) *Nucleic Acids Res.* 16, 9645-62.

IDENTIFICACIÓN, AISLAMIENTO-BIOGUIADO Y EVALUACIÓN DE LA POTENCIA DE LA POBLACIÓN DE METABOLITOS ANTIBACTERIANOS PRODUCIDOS POR LA CEPA KRIBBELLA CA-293567

Jorge Roca, Sandra Ruiz, Ignacio González, Carlos Justicia, Caridad Díaz, Mercedes De La Cruz, Jesús Martín, Ignacio Fernández, Olga Genilloud, Fernando Reyes and José R. Tormo

RESUMEN: El género *Kribbella*, descrito en 1999, constituye un potencial productor de nuevos compuestos antimicrobianos. Miembros de este género han sido ya descritos como productores de metabolitos muy potentes contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA) como la sandramicina, un depsipéptido aislado por primera vez de un cultivo de *Nocardioideis sp* en 1989. Durante un campaña de cribado de alta densidad (HTS) enfocada en el descubrimiento de nuevos agentes antiinfectivos contra superbacterias en Fundación MEDINA, conseguimos identificar un perfil de actividad antimicrobiana poco frecuente en cultivos obtenidos de la nueva cepa *Kribbella* CA-293567, aislada de El Saladar del Margen, en Cúllar-Baza, Granada. Cuyos extractos presentaron actividad tanto contra agentes patógenos Gram-positivos como MRSA, como contra dos agentes Gram-negativos y un hongo patógeno humano. Estos resultados prometedores nos llevaron a enfocarnos en la caracterización microbiana de esta interesante cepa de *Kribbella* CA-293567 y en la identificación y evaluación en potencia de la población de metabolitos microbianos potencialmente interesantes que produce. Para la consecución de estos objetivos, se llevó a cabo la caracterización molecular de la cepa mediante su análisis filogenético y, tras un estudio de medios de cultivo para potenciar la producción de actividades antibacterianas, la cepa se fermentó en medio DNPM líquido en media escala y el extracto de su fermentación se sometió a un fraccionamiento bioguiado enfocado en la purificación de sus componentes bioactivos. Los resultados han cristalizado en el aislamiento de cuatro metabolitos activos, siendo uno de ellos la ya mencionada sandramicina, cuya potente actividad frente a MRSA se confirmó y se documenta por primera vez como activa contra el hongo patógeno humano *Aspergillus fumigatus*. Adicionalmente, tres nuevos productos naturales, con perfil atípico de actividad dependiente de concentración, frente a las cepas clínicamente relevantes *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* pudieron ser también identificados.

THE EFFECT OF BODY FAT DISTRIBUTION ON THE SYSTEMIC SCLEROSIS: A MENDELIAN RANDOMIZATION STUDY

Gonzalo Villanueva-Martin, Marialbert Acosta-Herrera, Martin Kerick, Elena López-Isac, Carmen P Simeon, Norberto Ortego-Centeno, Jose Luis Callejas, International SSc Group, Xia Jiang, Javier Martin and Lara Bossini-Castillo

RESUMEN: La esclerodermia (systemic sclerosis, SSc) es una enfermedad autoinmune (autoimmune disease, AD) caracterizada por procesos fibróticos del tejido conectivo, daño vascular y alteraciones crónicas de la respuesta inmunológica. La SSc es una enfermedad de etiología compleja en la que decenas de factores genéticos de riesgo interactúan con factores ambientales en su mayoría desconocidos. La obesidad es un conocido factor de riesgo para diferentes ADs, ya que se asocia con un estado proinflamatorio continuado. En este estudio, aplicamos una estrategia de aleatorización mendeliana basado en 2 muestras independientes (Two-Sample Mendelian Randomization, 2SMR) para estudiar el efecto causal en la SSc de tres parámetros relacionados con la obesidad: índice de masa corporal (body mass index, BMI), índice cintura-cadera (waist-to-hip ratio, WHR) y WHR ajustado por BMI (WHR adjusted for BMI, WHRadjBMI). Para ello, usamos los resultados de las asociaciones genéticas de miles de polimorfismos de un sólo nucleótido (single nucleotide polymorphisms, SNPs) incluidos en estudios de asociación del genoma completo (genome-wide association study, GWAS) para SSc (9,486 casos, 18,333 controles y 4,723,365 SNPs) y para cada uno de los factores de riesgo, BMI (806,810 participantes y 27,381,302 SNPs), WHR (697,734 participantes y 27376273 SNPs) y WHRadjBMI (694,649 participantes y 27,375,636 SNPs) del UK Biobank y de Genetic Investigation of Anthropometric Traits consortium (GIANT). Se seleccionaron las señales de asociación independientes de cada factor de riesgo ($P < 5 \times 10^{-9}$, $R^2 < 0.05$) y se analizó su efecto causal usando diferentes métodos de 2SMR: método ponderado de la varianza inversa (inverse variance weight, IVW), MR-Egger, MR-PRESSO y MR multivariable (MVMR) implementados en el paquete de R "TwoSampleMR". Además, se estimó la correlación genética global entre los tres rasgos de obesidad y la enfermedad utilizando el software LDSC, y la correlación genética local entre los rasgos, utilizando el método ρ -HESS. No se observó correlación genética global entre ninguno de los factores de riesgo analizados y la SSc. A escala local, sólo se detectó un incremento de la correlación entre la SSc y WHRadjBMI en la región del complejo mayor de histocompatibilidad (Human Leukocyte Antigen, HLA). No se encontró evidencia que apoyase un efecto causal de BMI o WHR sobre la SSc. Sin embargo, sí se observó una relación causal negativa entre WHRadjBMI (IVW $P < 0.038$, OR = 0.43 [0.20-0.90]; MR-Egger $P < 0.049$, OR = 0.73 [0.56-0.94]; MR-PRESSO $P < 0.39$, OR = 0.77 [0.60-0.99]). Tampoco se observó ninguna relación causal específica de subtipo, tras realizar la estratificación por sexo y subtipos clínicos y serológicos de la enfermedad. El modelo MVMR que incluía a la vez BMI y WHR tampoco puso de manifiesto ninguna evidencia de asociación con SSc. En este trabajo se ha explorado el efecto de distintos rasgos asociados a obesidad en el riesgo a sufrir SSc. Pese a la falta de evidencia de relaciones causales en este estudio, consideramos que la asociación negativa observada entre SSc y WHRadjBMI se debe al efecto de las complicaciones gastrointestinales (GI) que sufren algunos pacientes de SSc, que provocan problemas motores de las vías digestivas haciendo que los estos tiendan a perder peso. Esta característica intrínseca de la enfermedad podría actuar como factor de confusión en nuestro estudio, impidiendo poner de manifiesto la influencia de la obesidad en la SSc, al contrario de lo que ocurre en otras enfermedades reumáticas.

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2
10 febrero 2022

Volver menú SESIONES >>

PÓSTERS

1. NETS en periimplantitis
2. Estudio del comportamiento y la seguridad de un sistema Tet-On inducible sin transactivador
3. Generación de un nuevomodelo de mucosa oral humana pre vascularizada generada mediante técnicas de ingeniería tisular
4. Desarrollo de un biorreactor dinámico para el estudio de procesos de regeneración de cartílago articular
5. Cortistatina v2.0: Una nueva terapia avanzada para enfermedades inflamatorias y fibróticas
6. Evaluación preclínica de nuevos biomateriales de fibrina-agarosa para su utilización en la reparación de las lesiones tendinosa por ingeniería tisular
7. Terapia dirigida con magnetoliposomas asociadas a oxaliplatino contra cáncer colorrectal
8. Mejora de la producción de células T-CAR alogénicas universales
9. Nueva estrategia terapéutica con nanoformulaciones funcionalizadas con LGR5 en cáncer de colon avanzado
10. Nuevos magnetoliposomas biomiméticos como nanoportadores de oxaliplatino
11. Evaluación del impacto físico-químico y celular de diferentes recubrimientos sobre nanopartículas de poliestireno
12. Células madre cancerígenas de melanoma: Optimización de un método para su cultivo, enriquecimiento y mantenimiento
13. Papel del gen Sox9 en el crecimiento de la uña y en la regeneración del extremo dactilar
14. Propiedades mecánicas y microestructurales de hidrogeles de alginato de sodio deshidratados bajo un esfuerzo controlado
15. Hidrogeles supramoleculares con control remoto mediante campos magnéticos
16. Uso de nanofibras de PLA con un derivado de ácido maslínico como herramienta terapéutica frente al cáncer de colon: estudio preliminar
17. Hidrogeles supramoleculares magnéticos inyectables
18. LC-MS/MS(Orbitrap) "peptide mapping" análisis de la proteína de fusión Fc terapéutica romiplostim: detección de degradación por deamidación
19. Nanocápsulas líquidas de aceite de oliva conjugadas con anti-CD44 para atacar las células madre del cáncer de páncreas
20. Diseño de nanosistemas magnéticos core-shell como agentes de magnetotermia y fototermia antitumoral
21. Nano3Device: hacia la aplicación traslacional de nanodispositivos teranósticos
22. Avances en la tecnología de sprays para la regeneración de la piel
23. Nueva estrategia de edición génica ex-vivo con la identificación de CX3CR1 como locus diana seguro
24. Tumores bioimpresos en chips para el estudio de la metástasis: más cerca de la oncología personalizada
25. BNCT: Radioterapia selectiva a nivel celular para el tratamiento de tumores de mal pronóstico
26. TARGETOF: Herramientas nanotecnológicas intracelulares detectables por citometría de masas para detectar la unión fármaco-diana. Hacia una medicina personalizada
27. El uso de matriz extracelular descelularizada en ingeniería de tejidos óseos: tendencias presentes y futuras
28. Nanopartículas magnéticas biocompatibles recubiertas de oro para aplicaciones biomédicas
29. Exosomas derivados de células T-CAR: caracterización estructural y funcional
30. Quimioterapia dirigida y fototermia combinadas basada en el uso de nanopartículas magnéticas biomiméticas funcionalizadas con un nuevo inhibidor de ChoK1, PL48

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2

10 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

NETS EN PERIIMPLANTITIS

Sarmad Muayad Rashid Albakri, Natividad Martin Morales, Saray Montalvo Acosta

RESUMEN: Las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) son filamentos extracelulares de cromatina producidos tras la activación celular y descritos como un nuevo mecanismo para atrapar, inmovilizar y potencialmente matar bacterias y se han propuesto como una intervención en la patogenia de la periimplantitis. El objetivo de nuestro estudio fue caracterizar la expresión de TNE en tejidos gingivales de pacientes con periimplantitis. Para ello se realizó un estudio observacional transversal en pacientes con periimplantitis que requirieron extracción de implantes. Las biopsias de tejido gingival se obtuvieron después del examen clínico y la extracción del implante. Se realizaron microscopía electrónica e inmunofluorescencia para caracterizar los NET. Se realizó un análisis inmunohistoquímico para cuantificar la expresión de la trampa extracelular de neutrófilos mediante Monoclonal Anti-CD15 en biopsias de pacientes con periimplantitis. Se obtuvieron diferentes biopsias de 30 pacientes: la microscopía electrónica y las imágenes de inmunofluorescencia mostraron una mayor expresión de los neutrófilos presentes en el tejido inflamado por el implante. Se observó la liberación de contenido nuclear al espacio extracelular, compatible con la formación de NET. En conclusión, se encontraron trampas extracelulares de neutrófilos en muestras de tejido de periimplantitis como componentes extracelulares de la cromatina, junto con enzimas de neutrófilos, que no estaban presentes en controles sanos.

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO Y LA SEGURIDAD DE UN SISTEMA TET-ON INDUCIBLE SIN TRANSACTIVADOR

Carlos Blanco-Benítez ; María Tristán-Manzano ; Pedro Justicia-Lirio; Francisco Martin

RESUMEN: Los sistemas inducibles por tetraciclina (Tet-On) se utilizan para una variedad de aplicaciones, desde la investigación básica hasta la terapia génica. Sin embargo, la mayoría de los sistemas Tet-On utilizan proteínas quiméricas que contienen transactivadores (una quimera TetR-VP16) que se unen al operón TetO a través del dominio TetR e inducen la expresión transgénica de un promotor mínimo gracias al dominio VP16. Esta configuración puede constituir un problema ya que se ha demostrado que la expresión de los transactivadores causa diferentes tipos de toxicidades celulares por A) secuestrando factores de transcripción para el crecimiento celular y B) activación de genes celulares debido a la unión de la proteína TetR-VP16 a sitios pseudo-TetO dispersa a través del genoma de todas las células eucariotas. Nuestro grupo ha desarrollado previamente Lent-On-Plus (LOP), un sistema Tet-On sin transactivador basado en el represor TetR original. En el presente estudio, primero analizamos el comportamiento de LOP en diferentes líneas celulares y luego comparamos el comportamiento del sistema rtTA de última generación (Tet-On 3G) versus nuestro sistema TetR (LOP) en el contexto de vectores lentivirales. LOP generó de manera eficiente células sensibles a la doxiciclina altamente sensibles (0.1-1ng / ml) utilizando células K562, Jurkat, Namalwa, Nalm6, MiaPaca2, HEK293T y T. Para la comparación de LOP y Tet-On 3G, inicialmente nos enfocamos en las células Jurkat y HEK293T, observando fuertes diferencias en los niveles de expresión de ambos vectores en Jurkat, mientras que niveles similares en HEK293T. Analizamos en detalle el comportamiento de ambos sistemas en HEK293T para utilizarlo como modelo para investigar en detalle su eficacia y seguridad. Nuestros resultados muestran que, aunque Tet-On 3G LV expresan niveles más altos de eGFP, requiere 100-1000 veces más DOX en comparación con LOP LV (3000ng / ml versus 0.1ng respectivamente) y la cinética de inducción es más lenta. Las células que responden a Dox de ambos sistemas se han aislado y preparado para RNAseq para identificar cambios en la expresión inducidos por ambos sistemas en presencia o ausencia de Dox.

GENERACIÓN DE UN NUEVOMODELO DE MUSCOSA ORAL HUMANA PRE VASCULARIZADA GENERADA MEDIANTE TÉCNICAS DE INGENIERÍA TISULAR

Cristina Blanco-Elices, Jesús Chato Astrain, Salvador Oyonarte, Oscar García García, Ricardo Fernández Valadés, María del Carmen Sánchez Quevedo, Antonio España López, Miguel Alaminos, Miguel Ángel Martín Piedra, Ingrid Garzón.

RESUMEN: Los trastornos orales son afecciones que afectan a más de 3.000 millones de personas en todo el mundo. Para solventar este problema, durante los últimos años en Ingeniería Tisular se han desarrollado, optimizando y caracterizado varios modelos de mucosa oral humana tridimensional utilizando diferentes células, biomateriales y moléculas de señalización. Estos modelos han demostrado tener una utilidad potencial, pero una de las principales limitaciones clínicas de los tejidos bioartificiales es la falta de vascularización. Esta limitación puede conducir a hipoxia en el tejido injertado dificultando la biointegración. Dado que las células madre mesenquimales (MSC) tienen propiedades pro-vasculogénicas, su uso podría constituir una prometedora estrategia para la vascularización de tejidos artificiales. En este trabajo se han desarrollado nuevos modelos de mucosa oral artificial humana empleando como biomaterial hidrogeles de fibrina-agarosa, combinados con MSC capaces de diferenciarse al linaje celular endotelial. Se han obtenido tres tipos de MSC a partir de tejido adiposo (ADSC), médula ósea (BMSC) y pulpa dental (DPSC). Todos los tipos celulares fueron inducidos in vitro hacia linaje endotelial empleando medios de diferenciación durante 21 días. Una vez diferenciados los diferentes tipos de MSC, se generaron modelos tridimensionales de mucosa oral humana artificial utilizando fibroblastos de mucosa oral, ADSC, BMSC y DPSC antes y después de la inducción al linaje endotelial con el objetivo de estudiar la capacidad de inducir la vascularización de cada tipo celular. Como controles se generaron modelos tridimensionales con células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC). El potencial de vascularización y biointegración de cada sustituto de la mucosa oral humana se evaluó in vitro e in vivo en ratones atímicos durante una semana. Tras los 21 días de inducción in vitro, las MSCs fueron capaces de aumentar la expresión de los marcadores endoteliales CD31, VEGF y vWF, especialmente en BMSC y DPSC como se demostró mediante inmunofluorescencia. Además, en estos mismos grupos se detectó mediante un array de angiogénesis la sobreexpresión de numerosas proteínas con un importante papel en la vascularización. Por otro lado, una vez implantado el injerto artificial de mucosa oral humana durante una semana, se observó mediante inmunohistoquímica un aumento significativo de la formación de vasos sanguíneos en la zona de interfaz entre el injerto y los tejidos del huésped, mediante la expresión significativamente positiva de marcadores vasculares como son CD31, CD34, VEGF y vWF en comparación con los controles, especialmente cuando se emplearon MSC prediferenciadas de BMSC y DPSC. De este modo, los resultados de este trabajo sugieren que el uso de MSC prediferenciadas a linajes endoteliales podría contribuir a una rápida generación de una red vascular que podría favorecer la biointegración in vivo de los sustitutos de la mucosa oral humana creados mediante bioingeniería.

Este estudio ha sido apoyado por el Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I) del Ministerio de Ciencia e Innovación (Instituto de Salud Carlos III), becas FIS PI18/331, FIS PI21/00980, FIS PI18/332 e IC19/00024, y por la beca CSyF PI-0442-2019 de la Consejería de Salud y Familias, Junta de Andalucía, España. Cofinanciado por fondos FEDER, Unión Europea.

DESARROLLO DE UN BIORREACTOR DINÁMICO PARA EL ESTUDIO DE PROCESOS DE REGENERACIÓN DE CARTÍLAGO ARTICULAR

Noelia Campillo, Antonio Torres, Celia Romo, Carlos Chocarro-Wrona, Julia López, Juan A. Marchal, José M. Baena

RESUMEN: El sector biomédico se halla inmerso en un proceso de transformación tecnológica a fin de abordar los actuales problemas sociales y de salud. La escasez de donantes de órganos en una población cada vez más envejecida hace necesaria la búsqueda de nuevas estrategias que permitan generar sustitutos funcionales bioartificiales mediante la aplicación de las técnicas más vanguardistas en ingeniería de tejidos. En los últimos años, el surgimiento de la bioimpresión 3D ha permitido realizar grandes avances en ingeniería de tejidos, haciendo posible la generación ex vivo de porciones de tejidos u órganos con cierto grado de complejidad, de forma automatizada y controlada. A pesar de las numerosas ventajas que ofrece la bioimpresión 3D frente a otras técnicas, es necesario solventar numerosos desafíos tecnológicos antes de que la biofabricación de órganos con aplicación clínica se convierta en una realidad. Uno de los principales retos consiste en el mantenimiento del tejido bioimpreso a largo plazo en el laboratorio bajo condiciones óptimas que promuevan su maduración. Biorreactores personalizados capaces de biomimetizar el ambiente in vivo del órgano nativo mediante el control de parámetros fisiológicos y la aplicación de estímulos físicos, mecánicos y bioquímicos resultan cruciales en el proceso de biofabricación, pues tales estímulos son capaces de controlar las funciones celulares y los procesos de diferenciación durante la formación del tejido. A pesar del importante papel que desempeña el biorreactor en la parte final del proceso de biofabricación del tejido, su disponibilidad es muy limitada. Entre las razones principales se encuentran su elevado coste, los complejos procesos de fabricación y puesta a punto requeridos y un difícil manejo, no cumpliendo en muchos casos con las expectativas iniciales. REGEMAT 3D ha desarrollado un biorreactor de rodilla capaz de mimetizar la anatomía y fisiología de la rodilla humana (BMAP Knee) con el fin de estudiar procesos de regeneración de cartílago bajo un ambiente controlado. El biorreactor permite controlar parámetros de temperatura, concentración de O₂ y CO₂ para mantenerlos dentro del rango fisiológico, además de la aplicación de los movimientos más comunes en la rodilla humana (flexo-extensión, compresión y rotación) en modelos articulares obtenidos mediante bioimpresión 3D. En un estudio piloto se llevó a cabo una reconstrucción de la articulación de rodilla humana mediante bioimpresión 3D a partir de modelos obtenidos de imágenes de resonancia magnética de un paciente con lesiones osteocondrales a nivel del cóndilo medial y lateral del fémur. El biomaterial empleado para la impresión de fémur y tibia fue ácido poliláctico mientras que los meniscos y las lesiones osteocondrales fueron impresos en una malla de policaprolactona para dotar de una mayor flexibilidad. Se realizaron cultivos 3D en las lesiones con una biotinta compuesta por células mesenquimales derivadas de tejido adiposo y colágeno tipo 1. La aplicación de cargas mecánicas de compresión (0.3 Hz, 4h/día, total de 21 días) bajo condiciones fisiológicas de temperatura, concentración de CO₂ y O₂ promovieron la activación de los genes que codifican el factor de transcripción SOX9 y las proteínas de la matriz extracelular de cartílago colágeno tipo 2 (COL2A1) y agregano (ACAN), sugiriendo una activación del proceso de diferenciación de células mesenquimales hacia linaje condrogénico a nivel de la lesión osteocondral. Medidas de viabilidad y proliferación celular demostraron la capacidad del biorreactor de mantener los constructos 3D a largo plazo en condiciones de esterilidad, lo cual resulta fundamental para una posterior aplicación clínica.

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2

10 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

CORTISTATINA V2.0: UNA NUEVA TERAPIA AVANZADA PARA ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y FIBRÓTICAS

Jenny Campos-Salinas, Margarita Barriga y Mario Delgado

RESUMEN: El estudio de las enfermedades provocadas por desequilibrios en las respuestas inmunitarias que conducen a trastornos inflamatorios, hipersensibilidad y/o autoinmunidad y fibrosis, es una de las áreas de la investigación biomédica donde más se ha centrado la atención. Este interés se debe a su alta incidencia y a la falta de tratamientos efectivos. En los últimos años, nuestro grupo ha propuesto los neuropéptidos, en concreto Cortistatina (CST), como potencial estrategia terapéutica, demostrando su importante papel inmunomodulador y antifibrótico sobre procesos autoinmunes/inflamatorios en modelos experimentales de enfermedades como la sepsis, enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple, reumatoide artritis, miocarditis autoinmune, aterosclerosis y recientemente en fibrosis pulmonar, fibrosis hepática y esclerosis sistémica. Para lograr estos resultados, en el tratamiento con CST fue necesaria la administración frecuente de dosis elevadas del péptido, debido a su rápida degradación por la acción de las peptidasas tisulares y a su corta vida media. Este hecho conlleva una serie de inconvenientes para su uso en terapia, así como la posibilidad de generar efectos pleiotrópicos ya que sus receptores se encuentran distribuidos por todo el organismo. Para solucionar estos potenciales problemas, desarrollamos por ingeniería genética una forma mejorada de CST (CST-v2.0), bajo una estructura latente a modo de profármaco, en la que CST está protegida por un escudo molecular hasta llegar al foco inflamatorio/fibrótico, donde será liberada por la acción de metaloproteinasas presentes en la zona inflamada, activándose y aumentando así su biodisponibilidad. Nuestros resultados demostraron que CST-v2.0 presentó efectos terapéuticos en varios modelos preclínicos de enfermedades inflamatorias y fibróticas, disminuyendo significativamente los signos clínicos asociados a las mismas con dosis subóptimas y frecuencias de administración marcadamente reducidas en comparación con CST sin modificar. En resumen, CST-v2.0 surge como una herramienta terapéutica innovadora que resulta tremendamente atractiva y prometedora para el tratamiento de enfermedades crónicas de distinta etiología con difícil solución clínica en estos momentos y para el desarrollo de profármacos basados en el uso de neuropéptidos.

EVALUACIÓN PRECLÍNICA DE NUEVOS BIOMATERIALES DE FIBRINA-AGAROSA PARA SU UTILIZACIÓN EN LA REPARACIÓN DE LAS LESIONES TENDINOSA POR INGENIERÍA TISULAR

González-Quevedo D, Chato-Astrain J, Sánchez-Porras D, García-García OD, Ortiz-Arrabal O, Carriel V, Campos F

RESUMEN: Las lesiones tendinosas constituyen un problema frecuente en la cirugía ortopédica debido a su limitada capacidad de renovación y a los controvertidos tratamientos quirúrgicos. En los últimos años, uno de los objetivos de la ingeniería tisular ha sido el diseño y desarrollo de biomateriales que puedan contribuir a la terapéutica de dichas lesiones. El objetivo del presente trabajo fue evaluar experimentalmente en los efectos de dos biomateriales en la reparación de las lesiones de tendón: un hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa y un hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa entrecruzado con genipin en el modelo de rata Wistar. Tras la generación de ambos biomateriales se realizó una caracterización biomecánica y de viabilidad. Los animales de experimentación en los que se generó la lesión y se implementó el uso de dichos biomateriales se dividieron en 4 grupos experimentales (n=6 en cada grupo): reparación directa (Control) y reparación del tendón con MatriDerm®, hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa y un hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa entrecruzado con genipin. Los análisis histológicos se realizaron después de 4 y 8 semanas tras la cirugía. Las pruebas de tracción revelaron que los hidrogeles nanoestructurados de fibrina-agarosa y los de fibrina-agarosa entrecruzada con genipin tenían unas propiedades biomecánicas generales significativamente superiores en comparación con MatriDerm®. Además, los estudios biológicos confirmaron una alta viabilidad celular en todos los biomateriales, especialmente en el hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa. Además, la evaluación in vivo de los tendones reparados utilizando los distintos biomateriales usados en este estudio dio como resultado una mejor organización de las fibras de colágeno y la alineación de las células que la reparación directa. Este estudio demostró que tanto el hidrogel nanoestructurado de fibrina-agarosa como el de fibrina-agarosa entrecruzada con genipin podrían mejorar la cicatrización del tendón tras una reparación quirúrgica. Tras los estudios preclínicos realizados deberá procederse a la autorización por la Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios y su fabricación en condiciones de calidad farmacéutica llevar a cabo su traslación a la clínica.

Este estudio ha sido financiado por la Fundación de la Sociedad Española de Ortopedia y Traumatología (SECOT), por el Plan Nacional de Investigación Desarrollo e Innovación Tecnológica, Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III), y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) Unión Europea (FIS PII7-0393).

TERAPIA DIRIGIDA CON MAGNETOLIPOSOMAS ASOCIADAS A OXALIPLATINO CONTRA CÁNCER COLORRECTAL

A. Cepero, B. García-Pinel, L. Gago, Y. Jabalera, G. Iglesias, L. Cabeza, R. Ortiz, C. Jiménez-López, C. Melguizo, J.C. Prados

RESUMEN: El oxaliplatino (OXA) es uno de los quimioterapéuticos principales para el tratamiento del cáncer colorrectal (CCR), el tercer tumor más frecuente a nivel mundial. En estadios avanzados, el CCR tiene una supervivencia a cinco años del 14%, siendo la aparición de múltiples resistencias uno de los principales problemas en el fracaso del tratamiento. En este contexto, las células madre del cáncer colorrectal (CSC), derivadas de las células madre intestinales positivas al marcador LGR5, parecen ser las responsables de la resistencia a la quimioterapia, la radioterapia y el desarrollo de metástasis. Por ello, el desarrollo de nuevas nanoformulaciones que se dirijan selectivamente a las células del CCR aparece como una estrategia prometedora para mejorar el pronóstico de estos pacientes. Concretamente, los magnetoliposomas (MLPs) son un tipo de nanotransportadores con múltiples propiedades, como la liberación controlada de agentes antitumorales, el direccionamiento activo mediante la unión de anticuerpos monoclonales y la alta biodisponibilidad. En este trabajo, en primer lugar, se sintetizaron nanopartículas magnéticas biomiméticas (BMNPs) utilizando la proteína de membrana del magnetosoma MamC y se funcionalizaron con Oxaliplatino (BMNP-OXA). Posteriormente, se generaron liposomas PEGylados cargados con BMNP-OXA (MLP-OXA) y BMNP (MLP), que fueron direccionados frente a la proteína de membrana LGR5 mediante la unión covalente de anticuerpos anti-LGR5 (MLP-OXA-LGR5 y MLP-LGR5, respectivamente). Todas las nanoformulaciones fueron caracterizadas por microscopía electrónica de transmisión y por dispersión de luz dinámica, también se calculó el valor del potencial ζ . Se analizó la expresión proteica del marcador LGR5 mediante western blot en las líneas celulares de CCR MC38 y T84 y en la línea de control de carcinoma hepatocelular HepG2. Las células sembradas en placas de 48 pocillos fueron tratadas con OXA, MLP-OXA, MLP-OXA-LGR5 y ambas formulaciones de MLPs libres de fármacos durante 72 h a seis concentraciones diferentes. Los porcentajes de proliferación celular se analizaron mediante el ensayo de sulforodamina B. Todos los resultados se presentaron como la media \pm desviación estándar (SD). El análisis estadístico se realizó mediante pruebas t de Student con el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Los datos con $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Los resultados muestran que las nanopartículas magnéticas fueron envueltas dentro del liposoma con éxito. MLP-OXA presentó un diámetro aproximado de 150.7 ± 59.17 nm y MLP de 106.1 ± 20.41 . Asimismo, MLP-OXA y MLP fueron funcionalizados con anticuerpos frente a LGR5 sin producir un aumento de tamaño de las nanoformulaciones ($118,2 \pm 2,97$ nm y $101,5 \pm 13,33$ nm, respectivamente). Además, el estudio de la movilidad electroforética mostró que todas las nanoformulaciones estaban cargadas positivamente. Asimismo, se encontró expresión de LGR5 en las líneas celulares de CCR MC38 y T84. En MC38 y T84, el tratamiento con MLP-OXA-LGR5 mostró un mayor efecto citotóxico que el fármaco libre y las nanoformulaciones no dirigidas ($p < 0,05$). Las nanoformulaciones libres de fármaco mostraron alta biocompatibilidad. En conclusión, MLP-OXA-LGR5 puede ser una estrategia prometedora para eliminar selectivamente las células LGR5+ de CCR. Se necesitan más estudios in vitro e in vivo para validar el efecto antitumoral selectivo.

García-Pinel, B. *Pharmaceutics* 2020, 12(6):589. doi: 10.3390/pharmaceutics12060589.

MEJORA DE LA PRODUCCIÓN DE CÉLULAS T-CAR ALOGÉNICAS UNIVERSALES

Kristina Pavlovic (1,2), María Dolores Carmona (2), Noelia Maldonado (1), María Tristán (1), Marina Cortijo (1), Sonia Nogueras (2), Rosario Jiménez (2), Francisco Martín (1), Inmaculada Concepción Herrera (2,3), Karim Benabdellah(1).

1. Terapia Génica y Celular. GENYO. Granada, España. 2. Terapia Celular. IMIBIC, Universidad de Córdoba. Córdoba, España. 3. Unidad de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba, España.

RESUMEN: La terapia basada en células T portadoras de receptores antigénicos quiméricos (células T-CAR) es un novedoso tratamiento para neoplasias linfoides, que ya ha demostrado resultados prometedores. Sin embargo, actualmente se está trabajando en mejorar esta estrategia. En primer lugar, para evitar las dificultades relacionadas con la obtención de un número adecuado de células autólogas, el uso de células alogénicas universales está siendo evaluado para su posible uso en clínica. Por otro lado, varios ensayos clínicos basados en la estrategia T-CAR se han visto afectados por las características intrínsecas de las células utilizadas como tratamiento, principalmente asociadas al fenotipo de las células T. Los productos T-CAR derivados de poblaciones enriquecidas en células con un menor estadio de diferenciación presentan una mayor persistencia in vivo, y un mayor efecto citotóxico. Por ello, el objetivo de nuestra investigación es generar células T-CAR alogénicas universales, con fenotipo definido. Para llevar a cabo este estudio, se generaron células T-CAR universales, mediante la disrupción de los genes B2M y TRAC, con el objetivo de generar células que escapen del reconocimiento inmune y eviten así el desarrollo de reacciones de alorechazo. Esta estrategia además se ha combinado con la selección de subpoblaciones específicas de células T, con una mayor persistencia y actividad antitumoral in vivo. La edición génica se llevó a cabo mediante el sistema CRISPR-Cas9 y su eficiencia se evaluó mediante PCR y la herramienta ICE de Synthego, mientras que las subpoblaciones se obtuvieron mediante un separador celular, atendiendo a marcadores celulares específicos analizadas por citometría de flujo. En conclusión, la edición génica de linfocitos T-CAR por disrupción de los loci TCR y B2M, en combinación con el aislamiento de subpoblaciones específicas de células T, son dos estrategias in vitro desarrolladas con el objetivo traslacional de mejorar los resultados en clínica de las células T-CAR en pacientes con neoplasias de células B refractarias o recidivantes.

NUEVA ESTRATEGIA TERAPÉUTICA CON NANOFORMULACIONES FUNCIONALIZADAS CON LGR5 EN CÁNCER DE COLON AVANZADO

Gago Lidia, Cepero Ana, García-Pinel Bea, Jabalera Ylenia, Iglesias Guillermo, Jimenez-López Concepcion, Prados José, Cabeza Laura

RESUMEN: Los fármacos utilizados en la quimioterapia del cáncer colorrectal (CCR) como el oxaliplatino (Oxa), el 5-fluorouracilo o el irinotecán, generan efectos secundarios diversos derivados del tratamiento. Por lo tanto, son necesarias nuevas herramientas para mejorar las terapias convencionales del CCR y la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para un tratamiento más específico. Concretamente, se ha descrito el receptor 5 acoplado a la proteína G rico en leucina (LGR5) como una diana de interés en CCR. LGR5 es una proteína diana de la vía de señalización Wnt/ β -catenina que estimula la autorrenovación y la proliferación celular. Se encuentra presente en las células madre de las criptas del intestino delgado y en numerosos tumores colorrectales. En los últimos años la nanomedicina ha surgido como un enfoque prometedor para el diagnóstico y el tratamiento del cáncer. Dentro de la gran variedad de nanoformulaciones, las nanopartículas magnéticas son una opción prometedora en el campo de la nanomedicina del cáncer debido a sus características intrínsecas, que dan lugar a la posibilidad de una terapia combinada y dirigida. Asimismo, estas nanoformulaciones pueden funcionalizarse mediante la adición de anticuerpos en superficie que reconozcan de manera específica determinados biomarcadores. Por todo esto, en el presente trabajo se ha pretendido inducir la sobreexpresión de LGR5 en la línea celular de cáncer de colon murino MC38 con el fin de obtener células LGR5+ para testar magnetoliposomas pegilados cargados con Oxa y funcionalizados con anticuerpos anti-LGR5. Con respecto a la metodología utilizada, se llevaron a cabo dos técnicas para la inducción de la sobreexpresión de LGR5: (I) generación de estrés oxidativo mediante tratamiento con H₂O₂ a distintas dosis durante 27 días y (II) transducción con partículas lentivirales. Asimismo, se testaron los niveles de expresión de ARNm y proteína de LGR5 en las células tumorales mediante PCR cuantitativa y western blot, respectivamente. Finalmente, se realizaron ensayos de proliferación celular con las distintas nanoformulaciones y se determinó la viabilidad celular tras 72h mediante el ensayo colorimétrico de la Sulforodamina B. Los resultados obtenidos mostraron una sobreexpresión de ARNm de hasta 4,99 veces mayor en el tratamiento con H₂O₂ y 3 veces mayor en las células transducidas en comparación con la línea celular basal. Sin embargo, no se mantuvieron en la expresión proteica. Asimismo, se ha demostrado el mantenimiento de la sobreexpresión de LGR5 a nivel de ARNm tras 14 días de haber sido retirado el tratamiento con H₂O₂. Los magnetoliposomas funcionalizados y cargados con Oxa tuvieron un mayor efecto antiproliferativo en comparación con las formulaciones no funcionalizadas y el fármaco libre (alcanzando valores de inhibición de 86,14% a dosis 3 μ M con los magnetoliposomas funcionalizados). Además, se mostró la eficacia de un tratamiento combinado del fármaco (vehiculizado y sin vehiculizar) junto con la generación de estrés oxidativo, obteniendo reducciones significativas de la IC₅₀ en comparación con las células a las que no se les indujo estrés oxidativo (hasta un 66,67% con los magnetoliposomas funcionalizados cargados con Oxa). Por todo ello, la combinación de un tratamiento con magnetoliposomas pegilados transportadores de oxaliplatino y estrés oxidativo podría dar lugar a una terapia prometedora para la mejora del tratamiento contra el CCR y, por ende, en la calidad de vida de los pacientes, ya que permitiría la disminución de la dosis de fármaco, disminuyendo así los efectos secundarios de los tratamientos convencionales. No obstante, se necesitan más estudios que amplíen estos resultados preliminares.

NUEVOS MAGNETOLIPOSOMAS BIOMIMÉTICOS COMO NANOPORTADORES DE OXALIPLATINO

Beatriz Garcia-Pinel, Ylenia Jabalera, Guillermo Iglesias Salto, Concepción Jimenez-Lopez, Raul Ortiz, Jose Prados, Consolación Melguizo, Laura Cabeza.

RESUMEN: El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer cáncer más común en el mundo, cuyos principales tratamientos son la resección quirúrgica con o sin quimioterapia adyuvante para estadios menos avanzados. Actualmente, el tratamiento más utilizado para el tratamiento del CCR se basa en los agentes quimioterapéuticos de primera línea: 5-fluorouracilo, irinotecán y oxaliplatino (OXA). Pero su uso está asociado a una amplia lista de efectos secundarios que limitan su aplicación en la clínica. En estudios anteriores, se desarrolló una nanopartícula basada en un núcleo magnético biomimético (BMNP) para la vehiculización de OXA (Oxa-BMNP) con un gran efecto en las células de cáncer colorrectal. Sin embargo, provocó una ligera toxicidad en los glóbulos blancos y agregación de eritrocitos. Por tanto, en el presente estudio, la nanoplateforma ha sido modificada con un recubrimiento de lipídico (BMLs) y polietilenglicol (BMLs-PEG) para mejorar su biocompatibilidad. Para la evaluación de las propiedades de las BMLs cargadas y no cargadas con OXA, pegiladas o no, se ha utilizado una amplia batería de líneas de colon, tanto tumorales (T84, HCT15, HT29, SW480, MC38) como no tumorales (CCD18). Para su caracterización se han realizado pruebas de citotoxicidad, capacidad migratoria frente a un campo magnético, capacidad de internalización celular y efecto sobre células sanguíneas y del sistema inmunológico. Nuestros resultados demuestran que la nueva nanoformulación mejora la biocompatibilidad y la captación celular en comparación con su predecesora, sin reducir significativamente la citotoxicidad del fármaco en las células de cáncer de colon. Además, el magnetoliposoma pegilado redujo el porcentaje de hemólisis del 5% al 2%, siendo hemocompatible y reduciendo la aglutinación de glóbulos rojos, y no causó toxicidad en las células blancas sanguíneas. El estudio de la biocompatibilidad en las células sanguíneas, la capacidad de internalización celular y los ensayos de citotoxicidad realizados en el presente trabajo muestran que la adición de una capa lipídica y la pegilación adicional mejora la biocompatibilidad y la captación celular de Oxa-BMNPs sin reducir significativamente la actividad citotóxica del Oxa en las líneas celulares de cáncer de colon. El presente estudio es una prueba de concepto crucial necesaria para la futura aplicación de estas novedosas nanoformulaciones.

EVALUCIÓN DEL IMPACTO FÍSICO-QUÍMICO Y CELULAR DE DIFERENTES RECUBRIMIENTOS SOBRE NANOPARTÍCULAS DE POLIESTIRENO

Pablo Graván, Jesús Peña-Martín, Martín Villegas-Montoya, María José Gálvez-Ruiz, Houria Boulaiz, Juan Antonio Marchal, Francisco Galisteo-González y Paola Sánchez-Moreno.

RESUMEN: Las nanopartículas se han convertido en un elemento frecuente en el ámbito de la investigación biomédica. Un aspecto fundamental en el diseño de las mismas, es el medio con el que interactúan con su entorno, es decir, su recubrimiento superficial. El objetivo de este será la disminución de las interacciones no específicas y la focalización del efecto terapéutico. En este trabajo se han evaluado diferentes tipos de recubrimiento sobre la superficie de nanopartículas de poliestireno: un recubrimiento de polietilenglicol (PEG), un recubrimiento proteico de BSA, un recubrimiento de quitosano y un recubrimiento basado en las propias membranas celulares. Para ello se han optimizado diversos protocolos para la funcionalización de las superficies de las nanopartículas de poliestireno. La consecución del recubrimiento se ha determinado mediante micrografías de microscopía electrónica, así como técnicas de electroforesis o RMN en los casos correspondientes. Para evaluar la estabilidad coloidal de los sistemas, se ha determinado su tamaño y potencial zeta en un amplio rango de pHs, así como la determinación de la concentración crítica de coagulación (CCC). Además, se ha evaluado la protein corona asociada a cada uno de los recubrimientos. A su vez, se ha determinado la incorporación comparada de estos sistemas en líneas celulares de monocitos THP-1 y en la línea celular de cáncer de mama MCF-7, mediante técnicas de citometría y de microscopía confocal, entre otros ensayos in vitro. A través de este estudio, se ha podido determinar que el recubrimiento de un nanosistema es un aspecto fundamental en el diseño experimental del mismo y que, un mismo sistema, con diferente recubrimiento, presenta diferentes propiedades. Además, se ha demostrado que las nanopartículas recubiertas por membranas celulares presentan un mayor uptake por parte de los sistemas celulares.

CÉLULAS MADRE CANCERÍGENAS DE MELANOMA: OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO PARA SU CULTIVO, ENRIQUECIMIENTO Y MANTENIMIENTO

Jiménez Martínez Yaiza, Ruiz Alcalá Gloria, García Ortega María Belén, López-Ruiz Elena, Jiménez Gema, Marchal Juan Antonio, García Chaves María Ángel, Boulaiz Houria

RESUMEN: El melanoma maligno es conocido por ser uno de los cánceres más agresivos con una incidencia que aumenta cada año. Las células madre cancerosas (CSC) están involucradas en la resistencia a los tratamientos terapéuticos, el proceso metastásico y las recaídas del paciente. Por tanto, es de vital importancia para los investigadores encontrar una metodología que nos permita obtener subpoblaciones enriquecidas que mantengan sus propiedades intactas sin diferenciarse en el tiempo. Nuestro objetivo fue comparar la capacidad del medio condicionado obtenido a partir de células madre mesenquimales humanas (MSC) aisladas por dos métodos: enzimático y no enzimático, para el enriquecimiento y mantenimiento de las CSC de melanoma. Nuestros resultados mostraron por primera vez que las MSC aisladas mediante una metodología menos agresiva mostraban una mayor capacidad de enriquecimiento y mantenimiento de las CSC.

PAPEL DEL GEN SOX9 EN EL CRECIMIENTO DE LA UÑA Y EN LA REGENERACIÓN DEL EXTREMO DACTILAR

M. Lao, A. Hurtado, A. Chacón, M. Burgos, R Jiménez, F. Barrionuevo

RESUMEN: La uña es un apéndice especializado donde varios tejidos ectodérmicos funcionan de manera coordinada para garantizar su crecimiento constante a lo largo de toda la vida. Para ello, en la matriz ungueal situada en región proximal de la parte basal de la uña, existe una población de células madre que se diferencian por un lado en los queratinocitos que forman la lámina ungueal y por otro lado en las células del lecho ungueal, que es el epitelio que mantiene unido la lámina ungueal a la falange distal subyacente. SOX9 es un factor de transcripción con múltiples funciones durante el desarrollo embrionario y en la homeostasis de tejidos adultos. Nosotros hemos encontrado dos poblaciones de células positivas para SOX9 no descritas previamente en la uña. La primera se encuentra en el lecho ungueal. Usando ratones modificados genéticamente hemos trazado el destino de estas células y hemos comprobado que se trata de una población transitoria cuyo movimiento es paralelo al crecimiento de la uña. Además, mediante ratones mutantes hemos comprobado que, en ausencia de Sox9, las células del lecho ungueal no se diferencian y las células madre de la matriz ungueal proliferan, se expanden distalmente y se diferencian en queratinocitos, generando uñas de tamaño desproporcionado. Además, en estos ratones mutantes, la falange terminal subyacente a la uña degenera. La segunda población de células positivas para SOX9 se encuentra en el surco distal del dedo. El trazado genético de estas células en ratón adulto indica que se trata de un nicho de células madre autoregenerativas implicadas en la homeostasis de la epidermis del hiponiquio. Por lo tanto, SOX9 es un gen maestro esencial para la diferenciación de las células del lecho ungueal y la homeostasis de la uña. La parte distal del dedo de algunos mamíferos, incluyendo los humanos en edad infantil y los ratones, tiene la capacidad de regenerarse tras sufrir una amputación. Actualmente se conocen pocos genes implicados en este proceso. Nosotros hemos estudiado este proceso en ratones mutantes y controles y hemos descubierto que Sox9 juega un papel esencial en el mismo. Los resultados de este estudio nos ayudarán a comprender las bases celulares y moleculares de la homeostasis y regeneración de la región ungueal, y ayudarán a diseñar estrategias terapéuticas para el tratamiento de pacientes con enfermedades dactilares o que hayan sufrido una amputación.

PROPIEDADES MECÁNICAS Y MICROESTRUCTURALES DE HIDROGELES DE ALGINATO DE SODIO DESHIDRATADOS BAJO UN ESFUERZO CONTROLADO

Alberto Leon-Cecilla, Cristina Gila-Vilchez, Luis Álvarez de Cienfuegos y Modesto T. Lopez-Lopez

RESUMEN: La investigación en torno al diseño y fabricación de materiales anisótropos ha sufrido un importante desarrollo debido a las potenciales aplicaciones de estos materiales en campos como la biomedicina o la ingeniería tisular. El control de sus propiedades mecánicas y de su microestructura resulta crucial para obtener materiales seguros, biocompatibles y que sean capaces de imitar a las matrices extracelulares naturales. Hoy en día, uno de los materiales más usados para estas aplicaciones son los hidrogeles poliméricos, definidos como estructuras tridimensionales formadas por cadenas de polímeros hidrófilos entrecruzadas capaces de retener agua o fluidos biológicos en su interior, y que se caracterizan por a su alto contenido en agua (mayor del 90% en volumen), biocompatibilidad, consistencia blanda y propiedades mecánicas modificables. Entre los polímeros más comunes empleados en su fabricación se incluyen polímeros sintéticos como el polietilenglicol (PEG) o el alcohol de polivinilo (PVA), y polímeros naturales como la agarosa, la fibrina o el alginato. En este trabajo, hemos estudiado y comparado el efecto de la deshidratación en geles de alginato de sodio de dos pesos moleculares distintos. Durante los procesos de deshidratación hemos controlado la pérdida de agua mediante la aplicación de dos esfuerzos mecánicos, compresión o tracción [1-2], así como el tiempo durante el que aplicábamos dichos esfuerzos. Estos procesos de deshidratación controlada producen una reorganización permanente de la estructura interna del gel y un aumento de la concentración de polímero, que se traduce en la creación de nuevos enlaces entre las fibras poliméricas y la generación de una anisotropía interna en el material. Además, si ajustamos el peso molecular del alginato, el esfuerzo aplicado y el tiempo de deshidratación, podemos controlar las propiedades mecánicas y el grado de anisotropía en el hidrogel. Esto nos permite obtener materiales con las propiedades mecánicas y microestructura adecuadas para sus posibles aplicaciones biomédicas.

[1] G. Scionti et al. 2014 J. Biomed. Mater. Res. Part A 102, 2573-2582. [2] Md. T. I. Mredha et al. 2018 Adv. Mater. 30, 1704937.

Agradecimientos: Proyecto PID2020-118498GB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (España). Ayuda FPU19/01801 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FSE "El FSE invierte en tu futuro" y por la Universidad de Granada.

HIDROGELES SUPRAMOLECULARES CON CONTROL REMOTO MEDIANTE CAMPOS MAGNÉTICOS

Modesto T. Lopez-Lopez, Mari C. Mañas-Torres, Cristina Gila-Vilchez, Francisco J. Vazquez-Pérez, Miguel Alaminos, Luis Álvarez de Cienfuegos

RESUMEN: La inclusión de nanopartículas magnéticas (NPM) en los hidrogeles poliméricos ha ampliado la aplicabilidad potencial de estos materiales en el campo de la biomedicina. La presencia de NPM ofrece la posibilidad de modular las propiedades físicas del hidrogel magnético de forma remota y controlada, mediante la aplicación de campos magnéticos externos de intensidad variable. Además, la mera presencia de las NPM produce cambios permanentes en las propiedades mecánicas del hidrogel, así como alteraciones de su porosidad, permitiendo asimismo la generación de estructuras anisótropas. En este trabajo estudiamos hidrogeles biocompatibles y biodegradables basados en los péptidos Fmoc-difenilalanina (Fmoc-FF) (Fmoc = fluorenilmetoxicarbonilo) y Fmoc-arginina-glicina-ácido aspártico (Fmoc-RGD), a los que hemos incorporado NPM. Los hidrogeles híbridos resultantes presentan unas propiedades mecánicas mejoradas y resisten los procesos de inyección. Gracias a estas propiedades físicas superiores y a su mayor estabilidad, estos hidrogeles magnéticos son adecuados para utilizarse como andamios de soporte para cultivo celular 3D. Además, ha sido posible administrar estos hidrogeles en ratones de laboratorio mediante inyección. El seguimiento in vivo realizado demostró una buena biocompatibilidad de estos hidrogeles magnéticos, ausencia de toxicidad, y una mayor estabilidad en el lugar de inyección, lo que convierte a estos biomateriales en unos candidatos ideales para aplicaciones biomédicas basadas en cirugías mínimamente invasivas. En resumen, la incorporación de NPM permite mejorar las propiedades físicas de los hidrogeles supramoleculares basados en péptidos de cadena corta, manteniendo una adecuada biocompatibilidad y ausencia de toxicidad, que unido a la inyectabilidad demostrada, repercutirá en ampliar las aplicaciones biomédicas de estos biomateriales.

R. Contreras-Montoya et al. 2018 Mater. Chem. Front. 2, 686-699. M. C. Mañas-Torres et al. 2021 ACS Appl. Mater. Interfaces 13, 49692-49704.

Agradecimientos: Proyecto FIS2017-85954-R financiado por MCIN / AEI / 10.13039/501100011033 / FEDER, y proyecto PID2020-118498GB-I00 financiado por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033 (España)

USO DE NANOFIBRAS DE PLA CON UN DERIVADO DE ÁCIDO MASLÍNICO COMO HERRAMIENTA TERPÉUTICA FRENTE AL CÁNCER DE COLON: ESTUDIO PRELIMINAR

C. Luque, A. Cepero, B. García-Pinel, R. Contreras, M. Lopez-Romero, L. Cabeza

RESUMEN: El cáncer de colon es el tercer tumor más frecuente en la población mundial con una incidencia de 1,9 millones de nuevos casos cada año y con una mortalidad aproximada de 900.000 individuos a nivel mundial. Los fármacos actuales utilizados para el tratamiento de la enfermedad presentan limitaciones en su uso clínico, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. La nanotecnología aplicada en el campo de la medicina ofrece la posibilidad de desarrollar sistemas para aumentar la eficiencia de los fármacos empleados. Entre los fármacos con un futuro prometedor para resolver los problemas actuales del tratamiento del cáncer encontramos el ácido maslínico y sus derivados, cuyo potente efecto antitumoral ha sido reportado anteriormente. Por otro lado, entre los nanomateriales con aplicación médica podemos encontrar nanopartículas, nanofibras y nanotubos. En este sentido, las nanofibras cobran un gran interés en aplicaciones biomédicas gracias a sus características como su gran área de superficie, alta porosidad y propiedades mecánicas que les confiere una alta capacidad para cargarse con fármacos antitumorales. Estas nanofibras pueden liberar agentes anticancerígenos de una manera controlada y localizada permitiendo la implementación de un sistema biocompatible que puede emplearse tras la resección del tumor. Dentro de las nanofibras se encuentran aquellas basadas en ácido poliláctico (PLA), uno de los polímeros más interesantes por su biodegradabilidad, biocompatibilidad y capacidad de inmunomodulación. En este contexto, se ha desarrollado una nanofibra de PLA cargada con ácido maslínico derivado con Tiramina (TMA) como posible herramienta terapéutica. Como metodología, (1) se analizó la actividad citotóxica tanto de TMA libre como de su predecesor, el ácido maslínico (MA), en la línea celular de cáncer de colon humana T84 mediante un ensayo de Sulforhodamina B tras 72 horas de tratamiento. Del mismo modo, (2) la capacidad citotóxica de la nanofibra cargada con TMA se estudió durante 7 días de tratamiento en la misma línea celular. Los resultados mostraron que (1) tanto MA como TMA libres presentan un alto efecto antiproliferativo en la línea de cáncer de colon T84, teniendo TMA mejores resultados al reducir 2.37 veces el valor de IC50 de su predecesor (IC50 de TMA $12.02 \pm 1.24 \mu\text{g/ml}$ frente a IC50 de MA $28.53 \pm 7.46 \mu\text{g/ml}$). Así mismo (2), la nanofibra cargada con TMA presentó una actividad antiproliferativa significativa respecto a las células control a dosis de IC50 del fármaco libre, mostrando una proliferación relativa del 5%. Como conclusión, (1) TMA, un derivado de MA, mejora notablemente las propiedades antiproliferativas de su predecesor, convirtiéndose en un fármaco prometedor frente al cáncer de colon. Además, (2) las nanofibras con TMA han conseguido aumentar el tiempo de tratamiento en 5 días respecto al fármaco libre, por lo que podrían tener un elevado potencial en el tratamiento de este tipo de tumores, aunque se necesitan más estudios para dilucidar su mecanismo de acción y su posterior uso clínico

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica,
Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2

10 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

HIDROGELES SUPRAMOLECULARES MAGNÉTICOS INYECTABLES

Mari C. Mañas-Torres, Cristina Gila-Vilchez, Francisco Vazquez-Perez, Luis Álvarez de Cienfuegos, Modesto T. Lopez-Lopez, Pavel Kuzhir, David Momier, Jean-Claude Scimeca, Arnaud Borderie, Marianne Goracci, Fanny Burel-Vandenbos, Cristina Blanco-Elices, Ismael Rodríguez, Miguel Alaminos.

RESUMEN: La incorporación de nanopartículas magnéticas (NPM) dentro del hidrogel posee numerosas ventajas: permite el control remoto de las propiedades mecánicas, aumenta la robustez y estabilidad del hidrogel, y mejora las propiedades de inyectabilidad (mediante un proceso de cizallamiento / autocuración). Combinando las excelentes propiedades de los hidrogeles magnéticos con el mayor contenido de agua, porosidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad que poseen los hidrogeles supramoleculares, podemos obtener un material con excelentes propiedades para el crecimiento celular y aplicaciones in vivo. En el presente trabajo, hemos desarrollado un nuevo tipo de hidrogel magnético inyectable biocompatible y biodegradable compuesto por péptidos cortos de Fmoc-difenilalanina (Fmoc-FF) (Fmoc = fluorenilmetoxicarbonilo) y Fmoc-arginina-glicina-ácido aspártico (Fmoc-RGD) con nanopartículas magnéticas en su interior. Estos nuevos sistemas se han probado in vitro como andamios 3D para el crecimiento de células de osteoblastos y como vehículos de administración de fibroblastos. Finalmente, la toxicidad, degradación e inyectabilidad de estos hidrogeles se han evaluado in vivo mediante inyección subcutánea en ratones.

LC-MS/MS(ORBITRAP) “PEPTIDE MAPPING” ANÁLISIS DE LA PROTEÍNA DE FUSIÓN FC TERAPÉUTICA ROMIPLOSTIM: DETECCIÓN DE DEGRADACIÓN POR DEAMIDACIÓN

Mario Martínez Popeti (1,2), Julio Ruiz Travé (1,2), Raquel Pérez Robles (1,2,3), Antonio Salmerón-García (2,4), Jose Cabeza (2,4), Natalia Navasa (1,2).

1. Department of Analytical Chemistry, Science Faculty, University of Granada, Granada, Spain. 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA), Granada, Spain. 3. Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental-Alejandro Otero, Granada, Spain. 4. Department of Clinical Pharmacy, San Cecilio University Hospital, Granada, Spain

RESUMEN: Las proteínas de fusión Fc constituyen actualmente un grupo importante dentro de las proteínas terapéuticas. Se componen de un dominio Fc de una IgG (común en todas) unido a un ligando, péptido activo o algún dominio extracelular que potencie su acción frente a una diana específica [1]. Debido a la gran variedad de ligandos que pueden unirse a este dominio, se encuentra una amplia gama de fármacos para lidiar con muchas enfermedades, presentando así una gran potencialidad como terapéuticos. Dada su naturaleza proteica, están sujetas a sufrir modificaciones postraduccionales (PTMs, del inglés Post Transduccional Modifications) como deamidaciones, oxidaciones o isomerizaciones, entre otras. Estos cambios pueden provocar que el medicamento no sea lo seguro y eficaz que debería. Por este motivo, las PTMs son consideradas atributos críticos de la calidad. Analizarlas y cuantificarlas debe ser un proceso necesario para establecer que la calidad, eficacia y seguridad son las adecuadas para su uso. En concreto, las deamidaciones se producen principalmente en los residuos de Asparagina (N) y en una menor proporción en los de Glutamina (Q). Este cambio tiene un papel importante en la estabilidad y la heterogeneidad de las proteínas terapéuticas. Puede producirse en cualquiera de las diferentes etapas de producción, pero está comprobado que es la reacción predominante durante un almacenamiento inadecuado por mucho tiempo [2]. En este trabajo se presenta la caracterización estructural de romiplostim (en su medicamento original, Nplate®), proteína de fusión Fc terapéutica, que actúa a nivel del receptor de la trombopoyetina (TPO) [3]; se emplea en el tratamiento de la trombocitopenia inmunitaria (ITP), un trastorno que puede dar lugar a la aparición de hematomas y sangrado descontrolado. Esto ocurre debido a unos niveles inusualmente bajos de plaquetas en el paciente, células cuya función reside en controlar la coagulación de la sangre. El análisis estructural se ha abordado mediante un método multi-atributo (MAM, multi-attribute method) basado en el análisis del mapa peptídico (peptide mapping) obtenido tras digestión enzimática de la proteína, separación cromatográfica de los péptidos generados (UHPLC) y posterior detección MS/MS(Orbitrap), acoplados ambos equipos mediante ionización electrospray. De los diferentes atributos críticos de la calidad que pueden ser analizados, se ha seleccionado la deamidación, con el objetivo de evaluar cómo afectan ciertas condiciones de manipulación hospitalaria a este proceso químico de degradación proteica. Los resultados de la exposición de muestras del medicamento a un aumento considerable de la temperatura (80 °C) en ausencia de luz visible son recogidos en este trabajo de investigación.

[1] Bussel, J. Soff, G. Balduzzi, A. Cooper, N. Lawrence, T. Semple, J. (2021). A review of Romiplostim mechanism of action and clinical applicability. Drug Design, Development and Therapy. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S299591>

[2] Li, W. et al. Structural elucidation of post-translational modifications in monoclonal antibodies. ACS Symp. Ser. 2, 119–183 (2015). [3] Duibelshof, B. Murisier, A. Camperi, J. Fekete, S. Beck, A. Guillarme, D'Atri, V. (2020). Therapeutic Fc-fusion proteins: Current analytical strategies. Journal of Separation Science. DOI: 10.1002/jssc.202000765

NANOCÁPSULAS LÍQUIDAS DE ACEITE DE OLIVA CONJUGADAS CON ANTI-CD44 PARA ATACAR LAS CÉLULAS MADRE DEL CÁNCER DE PÁNCREAS

Saúl A Navarro-Marchal, Carmen Griñán-Lisón, José-Manuel Entrena, Gloria Ruiz-Alcalá, María Tristán-Manzano, Francisco Martín, Ignacio Pérez-Victoria, José Manuel Peula-García, Juan Antonio Marchal

RESUMEN: Las últimas tendencias en la investigación del cáncer y la nanomedicina se centran en el uso de nanotransportadores para dirigirse a las células madre del cáncer (CSC). En concreto, las nanocápsulas líquidas lipídicas suelen desarrollarse como nanotransportadores para la administración de fármacos lipofílicos. Aquí desarrollamos NCs líquidas de aceite de oliva (O2LNCs) funcionalizadas por el acoplamiento covalente de un anticuerpo anti-CD44-isotiocianato de fluoresceína (α CD44). En primer lugar, las O2LNCs están formadas por un núcleo de aceite de oliva rodeado por una cubierta que contiene fosfolípidos, un surfactante no iónico y moléculas de ácido desoxicolico. A continuación, los O2LNCs se recubrieron con un anticuerpo α CD44 (α CD44-O2LNC). Se demostró la optimización de un procedimiento de recubrimiento de α CD44, una completa caracterización fisicoquímica, así como una clara evidencia de su eficacia in vitro e in vivo. Nuestros resultados indican la alta captación dirigida de estas α CD44-O2LNCs, y la mayor eficacia antitumoral (hasta cuatro veces) de las α CD44-O2LNCs cargadas de paclitaxel en comparación con el paclitaxel libre en las CSCs pancreáticas (PCSCs). Además, las α CD44-O2LNCs fueron capaces de dirigirse selectivamente a las PCSCs en un modelo de xenotransplante ortotópico in vivo.

DISEÑO DE NANOSISTEMAS MAGNÉTICOS CORE-SHELL COMO AGENTES DE MAGNETOTERMIA Y FOTOTERMIA ANTITUMORAL

García-García G (1), Iglesias GR (2), Arias JL (3-5)

1. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, 28223 Madrid, España. 2. Laboratorio Nano-Mag, Departamento de Física Aplicada, Planta -1. Edificio I+D Josefina Castro. Av. de Madrid, 28. (18012). Universidad de Granada, España. 3. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, 18011 Granada, España. 4. Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España. 5. Instituto Biosanitario de Granada (ibs. GRANADA), Servicio Andaluz de Salud (SAS) - Universidad de Granada, 18012 Granada, España.

RESUMEN: El éxito de la hipertermia antitumoral radica en la pobre tolerancia al calor que presentan las células cancerígenas como consecuencia de su alta tasa metabólica y de una defectuosa vascularización de la masa tumoral. Se han desarrollado varias metodologías para inducir este aumento de temperatura siendo el uso de nanosistemas magnéticos uno de los enfoques más prometedores debido a su reciente introducción en la clínica para el tratamiento del glioblastoma. La funcionalización de estos nanosistemas con otros biomateriales posibilitaría su aplicación como sistemas de transporte de fármacos en respuesta a estímulos o como agentes de contraste de resonancia magnética de imagen. De esta forma, los nanosistemas magnéticos de tipo core-shell se presentan como potenciales agentes con aplicación en terapias avanzadas contra el cáncer. El objetivo de este trabajo es el desarrollo de nanosistemas core-shell (magnetita-quitosano) biocompatibles y estudio de su posible aplicación en hipertermia bimodal (hipertermia magnética y fototermia). La preparación de las nanopartículas de magnetita se basó en el método de coprecipitación química, la funcionalización con citrato y su inclusión en una matriz de quitosano. Se emplearon las técnicas de termogravimetría, espectroscopia de correlación de fotones y de electroforesis para la evaluación de la composición, tamaño y carga eléctrica superficial, respectivamente. Se estudió su posible toxicidad ex vivo con un ensayo de hemocompatibilidad. Por último, se analizó su capacidad como agente de hipertermia utilizando dos metodologías: la aplicación de un campo magnético alterno y de un láser de infrarrojo cercano. La metodología de síntesis desarrollada permitió la obtención reproducible de coloides de magnetita-citrato recubiertos con quitosano de tamaño adecuado para su administración parenteral. Los nanosistemas obtenidos permitían alcanzar temperaturas de hipertermia mediante las dos metodologías estudiadas. Futuros estudios permitirán determinar la posibilidad de una terapia bimodal de hipertermia mediante la aplicación simultánea de hipertermia magnética y fototermia.

La investigación realizada ha sido financiada por la Junta de Andalucía (Programa Operativo FEDER 2014-2020, A1-FQM-341-UGR-18, C-FQM-497-UGR18, P20_00346) y por el Ministerio de Economía y Competitividad (EC2019-005930-P).

NANO3DEVICE: HACIA LA APLICACIÓN TRASLACIONAL DE NANODISPOSITIVOS TERANÓSTICOS

Carlos Peris Torres, María Victoria Cano Cortés, Saúl Abenhamar Navarro-Marchal, Juan José Díaz Mochón, Juan Antonio Marchal, Rosario M. Sánchez-Martín.

RESUMEN: Los nanodispositivos teranósticos son capaces tanto de administrar terapias como de seguir o rastrear una determinada enfermedad mediante sistemas de detección de imágenes. En trabajos previos hemos validado un nuevo nanodispositivo teranóstico trifuncionalizado para el cáncer, denominado Nano3Device. Consiste en nanopartículas sintéticas que portan un fármaco quimioterápico (doxorubicina), un marcador Cy7 para poder hacer el seguimiento de dichas nanopartículas, y un péptido de localización CRGDK que reconoce activamente el receptor neuropilina-1, sobreexpresado en las células de cáncer de mama triple negativo. El objetivo principal de este trabajo es avanzar hacia la validación de este nanodispositivo como eficaz, seguro, versátil y no tóxico para su uso in vivo con aplicación teranóstica, es decir, para un tratamiento antitumoral selectivo y monitorizado. Para ello, el Nano3Device ha sido caracterizado fisicoquímicamente y se ha realizado una evaluación preclínica. Dicha evaluación se realizó tanto in vitro como in vivo, abordando la farmacocinética (incluyendo la distribución tisular), la toxicología y la farmacodinámica. También se ha investigado el potencial teranóstico in vivo del Nano3Device, comparándolo con la quimioterapia de primera línea de referencia y con tratamientos más selectivos, como la administración de fármacos basada en liposomas. Se han obtenido resultados preliminares en xenoinjertos de cáncer de mama triple negativo (células MDA-MB-231 en ratones inmunodeprimidos NSG), demostrando que el uso de las nanopartículas Nano3Device reduce la dosis requerida de quimioterapia, promueve una acción local en la zona que rodea al tumor y reduce significativamente el volumen tumoral sin evidencia de toxicidad. Además, los niveles de Nano3Device en el tumor, el hígado y el plasma han sido indetectables tras la finalización del tratamiento, lo que sugiere que el nanodispositivo podría ser eliminado con éxito. Este novedoso nanodispositivo aún debe ser validado en diferentes aspectos. Una vez confirmada su versatilidad, se le podrá unir una amplia gama de fármacos, marcadores y péptidos o anticuerpos selectivos, ampliando el potencial del nanodispositivo para el tratamiento del cáncer. Este trabajo tiene un claro enfoque traslacional, facilitando la transición de la investigación básica al desarrollo de aplicaciones clínicas que conduzcan a un mejor diagnóstico y tratamiento del cáncer.

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica, Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2

10 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

AVANCES EN LA TECNOLOGÍA DE SPRAYS PARA LA REGENERACIÓN DE LA PIEL

Paula Pleguezuelos Beltrán, Patricia Gálvez Martín, Daniel Nieto García, Juan Antonio Marchal, Elena López Ruíz

RESUMEN: Hasta la fecha, las heridas cutáneas siguen siendo un problema para los profesionales sanitarios en muchos casos, especialmente en heridas crónicas o profundas que requieren intervención terapéutica. Los avances recientes en medicina regenerativa e ingeniería de tejidos ofrecen estrategias prometedoras para la fabricación de sustitutos de piel artificiales, incluyendo la bioimpresión 3D, el electrospinning o los sprays celulares, entre otras. En particular, los sprays cutáneos muestran un gran potencial para aplicar células e hidrogeles para tratar heridas agudas y crónicas, presentando grandes ventajas con respecto a otros tratamientos, como la facilidad de aplicación, la posibilidad de tratar heridas extensas o la distribución homogénea del material pulverizado. El objetivo de esta revisión es dar a conocer los últimos avances en la tecnología de los sprays de piel, describiendo los distintos productos de spray acelulares y celulares y sus dispositivos, tanto en investigación como ya disponibles comercialmente, así como los principales ensayos clínicos que usan sprays para diferentes enfermedades y afecciones de la piel. Finalmente, argumentamos y sugerimos posibles tendencias futuras de la biotecnología de los aerosoles cutáneos para un mejor uso en dermatología clínica.

NUEVA ESTRATEGIA DE EDICIÓN GÉNICA EX-VIVO CON LA IDENTIFICACIÓN DE CX3CR1 COMO LOCUS DIANA SEGURO

I. Ramos-Hernández, FJ. Molina-Estévez, P. Muñoz, F. Martín.

RESUMEN: El éxito de la terapia génica (TG) ex-vivo se basa en la reconstitución del sistema hematopoyético mediante el trasplante de células madre y progenitores hematopoyéticos, HSPCs (del inglés "Hematopoietic Stem and Progenitor Cells"). Al diferenciarse para mantener la normal homeostasis del sistema inmunológico, las células editadas, circulantes y residentes, facilitan que los productos terapéuticos lleguen a todos los tejidos. Sin embargo, la sobreexpresión de ciertos genes terapéuticos en estadios tempranos en las HSPCs se ha asociado a citotoxicidad y alteraciones de su funcionalidad. Por otro lado, los avances en herramientas para edición génica permiten la inserción de trasgenes de manera dirigida y específica en el genoma. Por lo tanto, encontrar loci seguros que permitan control sobre la expresión del transgén y salvaguarden el fenotipo de las HSPCs supone un avance crítico para el éxito de la TG ex-vivo. Nuestro objetivo es mejorar la TG mediante edición génica de HSPCs para su traslación clínica en la enfermedad de Pompe, enfermedad monogenética hereditaria sin tratamiento actualmente. Como locus diana seleccionamos CX3CR1 entre distintos candidatos mieloides dada su baja expresión en HSPCs, y su incremento tras la diferenciación al linaje mielóide. Validamos la edición intrónica de CX3CR1 sin ablación del mensajero o la proteína, en HSPCs usando el sistema CRISPR/Cas9. Además, evaluamos distintos diseños de donadores expresando un gen reportero, para determinar la contribución de distintas rutas de reparación del DNA en la integración sitio-específica de nuestro donador. Nuestro protocolo resultó en una alta eficacia de edición génica en HSPCs (CD34+ derivadas de cordón umbilical), con ausencia de toxicidad o cambios en los marcadores fenotípicos evaluados. Además, determinamos que la longitud de los brazos de homología de nuestro donador es crítica para editar eficientemente el locus CX3CR1 en HSPCs. Asimismo, observamos un enriquecimiento de la población doble positiva para eGFP y CX3CR1 tras la expansión in vitro de nuestras células CD34+, lo que sugiere que los elementos de regulación epigenética del locus CX3CR1 puedan estar controlando la expresión de nuestro transgén. Nuestros esfuerzos se centran ahora en verificar los componentes epigenéticos sobre nuestro locus diana y en la evaluación de elementos de expresión que puedan mejorar el patrón de expresión excluyente en HSPCs, así como en la adaptación de nuestras herramientas para la corrección del déficit en actividad GAA lisosomal en la enfermedad de Pompe. Por consiguiente, nuestros datos indican que hemos identificado un locus mielóide específico ideal para la expresión de genes terapéuticos en HSPCs. Además de que nuestra estrategia resulta en la protección de las mismas, reduciendo toxicidad asociada a la sobreexpresión de trasgenes al mantener el patrón de silenciamiento epigenético de CX3CR1 en HSPCs.

TUMORES BIOIMPRESOS EN CHIPS PARA EL ESTUDIO DE LA METÁSTASIS: MÁS CERCA DE LA ONCOLOGÍA PERSONALIZADA

Jesús Ruiz-Espigares, Julia López de Andrés, Laura de Lara-Peña, Gema Jiménez, Juan Antonio Marchal

RESUMEN: Desde hace décadas, se han realizado numerosos estudios para generar un modelo mimético para el estudio de la metástasis, principal motivo de la mayoría de las muertes causadas por el cáncer, con el fin de resolver las incógnitas que rodean a esta enfermedad. Para comprender mejor este proceso de diseminación celular, se necesitan modelos más realistas capaces de recrear fielmente el microambiente tumoral (TME) de forma completa. Por ello, se han propuesto recientemente nuevas herramientas conocidas como tumor-on-a-chip y metástasis-on-a-chip. Estas herramientas incorporan sistemas microfluídicos y pequeñas cámaras de cultivo en las que el TME puede ser recreado fielmente gracias a la bioimpresión 3D. En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre las diferentes fases de la metástasis, las incógnitas que aún quedan sin resolver para su completa comprensión y el uso de nuevos modelos para el estudio de esta enfermedad. El objetivo es proporcionar una visión global del panorama actual y el gran potencial que tienen estos sistemas tumor-on-a-chip para la investigación traslacional in vitro de las bases moleculares de esta patología. Además, estos modelos permitirán avanzar hacia una medicina personalizada generando chips a partir de muestras de pacientes que imiten el tumor original y el proceso metastásico para así realizar un cribado farmacológico preciso estableciendo el protocolo de tratamiento más adecuado.

BNCT: RADIOTERAPIA SELECTIVA A NIVEL CELULAR PARA EL TRATAMIENTO DE TUMORES DE MAL PRONÓSTICO

Ruiz-Magaña MJ, M. Pedrosa-Rivera, Álvarez-Rodríguez P, Porrás-Quesada M, J. Praena, J. Expósito-Hernández, JL Osorio-Ceballos I. Porrás, Ruiz-Ruiz C.

RESUMEN: En la actualidad hay una gran diversidad de tumores que son resistentes a las terapias convencionales, como pueden ser el glioblastoma multiforme o el cáncer recurrente de cabeza y cuello. Desde hace unos años se ha abierto una nueva esperanza con resultados prometedores para el tratamiento de estos tumores mediante BNCT (Terapia mediante captura de neutrones por boro). Esta radioterapia experimental dirigida, parte de dos premisas: el uso de neutrones de baja energía y su reacción con ^{10}B (ambas por separado son prácticamente inocuos para nuestro organismo), el encuentro de ambos va a producir partículas cargadas de alta transferencia lineal de energía con un alcance muy corto, de tal manera que esta energía liberada solo va a ejercer sus efectos citotóxicos dentro de la célula donde se libere [1]. Además, otra ventaja adicional es que se necesitan solo como máximo dos sesiones de radiación, para conseguir los efectos terapéuticos, a diferencia de la radioterapia convencional. Los ensayos clínicos realizados en pacientes que no han respondido de manera efectiva a las terapias convencionales han mostrado en muchos casos remisiones completas del tumor después de haber sido tratados con BNCT. En la actualidad se utiliza como compuesto de boro L- ρ -boronophenylalanine (BPA), el cual se ha comprobado que presenta una acumulación selectiva en las células tumorales, llegando a acumularse en el tumor hasta tres veces más que en el tejido sano. Nuestro grupo, el cual está formado por investigadores de diferentes disciplinas (físicos, médicos, químicos y biólogos) se ha centrado en mejorar la estimación del efecto biológico de esta terapia ampliando los estudios en distintos aspectos, con el fin de poder desarrollar y aplicar esta terapia antitumoral selectiva al mayor número de pacientes y de tumores de mal pronóstico como el cáncer de páncreas, mama triple negativo, etc. Para ello estamos probando diferentes compuestos de boro, con el fin de aumentar la concentración de boro intracelular y mejorar el resultado terapéutico. Las células tratadas con estos nuevos compuestos son irradiadas en Institut Laue-Langevin (Grenoble) donde se encuentra la principal fuente de neutrones de baja energía sin contaminación de otras partículas [2]. Una vez tratadas e irradiadas las células se estudia la respuesta en presencia y en ausencia de boro con el fin de determinar su efectividad biológica mediante ensayos de clonogenicidad y proliferación celular. Con el fin de determinar el efecto de la BNCT en el tejido sano, otra parte de nuestra investigación se basa en determinar y estudiar por separado, cada uno de los efectos de los neutrones con otros elementos químicos. En nuestros últimos experimentos nos hemos centrado en el nitrógeno, cuya probabilidad de interacción con los neutrones, y por lo tanto de influir en la dosis total, es alta [3]. Para ello hemos sustituido en los cultivos celulares el ^{14}N , presente de manera mayoritaria en la naturaleza, por ^{15}N , el cual no reacciona frente a los neutrones. De esta manera podemos separar por primera vez el efecto exclusivo de los neutrones de los fotones secundarios producidos. Todos los resultados obtenidos nos ayudan a tener un mejor conocimiento de las dosis en BNCT y de esta manera adaptarlas a los distintos tipos de tumores para obtener una mejor respuesta en el paciente.

[1] RF Barth, et al (2018). A realistic appraisal of boron neutron capture therapy as a cancer treatment modality. *Cancer communications* (London, England), 38(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s40880-018-0280-5> [2] M Pedrosa-Rivera, et al. Radiobiology data of melanoma cells after low-energy neutron irradiation and boron compound administration, *Appl. Radiat. Isot.* 163:109205 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109205> [3] M Pedrosa-Rivera, et al. Thermal Neutron Relative Biological Effectiveness Factors for Boron Neutron Capture Therapy from In Vitro Irradiations, *Cells*, 2020. <https://doi.org/10.3390/cells>

SESIÓN 4.

Terapias avanzadas I: Celular, Génica,
Bioingeniería, Nanomedicina

Día 2

10 febrero 2022

[Volver menú SESIONES >>](#)

TARGETOF: HERRAMIENTAS NANOTECNOLÓGICAS INTRACELULARES DETECTABLES POR CITOMETRÍA DE MASAS PARA DETECTAR LA UNIÓN FÁRMACO-DIANA. HACIA UNA MEDICINA PERSONALIZADA

Teresa Valero, Rosario Sánchez-Martín

RESUMEN: El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel europeo y uno de los mayores retos a los que se enfrenta la humanidad. El descubrimiento de fármacos inhibidores de quinasas multi-diana aparecieron como una potente alternativa de tratamiento para diversos tumores. Sin embargo, la aparición de efectos adversos severos limita la dosis y la eficiencia de estos tratamientos. Así pues, la caracterización de esta promiscuidad farmacológica es crucial para desarrollar tratamientos selectivos y seguros. El proyecto TARGETOF financiado por la Unión Europea (H2020-MSCA-IF-2019-895664) propone una aproximación versátil para detectar la unión de fármaco y diana farmacológica. Combinando nanopartículas testadas en esta detección intracelular con innovadoras técnicas de citometría de masas, esta aproximación permitirá conocer el perfil farmacológico de cada fármaco sistemáticamente. Además, la creación de un sistema de códigos de barras basados en metales permitirá combinar muestras de diferentes procedencias en un solo experimento. A largo plazo se podrán combinar muestras de diferentes pacientes para detectar las dianas más expresadas y así seleccionar la terapia más adecuada para cada paciente.

EL USO DE MATRIZ EXTRACELULAR DESCELULARIZADA EN INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS: TENDENCIAS PRESENTES Y FUTURAS

Ana Voltés-Martínez, Clara Martínez-Esquinas, Cristina Antich-Acedo, Elena López-Ruiz, Juan Antonio Marchal-Corrales

RESUMEN: La regeneración de tejido óseo dañado es uno de los principales enfoques de la medicina regenerativa. La ingeniería de tejidos óseos (BTE) se centra en intentar reparar las lesiones óseas que el cuerpo no consigue curar utilizando diferentes combinaciones de biomateriales sintéticos y naturales. A pesar de la amplia gama de biomateriales existentes, la complejidad para recrear el microambiente óseo se presenta como un gran reto debido a la dificultad que presenta imitar las propiedades mecánicas y bioquímicas de este tejido. Recientemente, la matriz extracelular descelularizada (dECM) se ha establecido como un novedoso biomaterial biomimético capaz de preservar el entorno tisular nativo, promover la proliferación celular y proporcionar señales estructurales y bioquímicas para la diferenciación celular. Aun así, actualmente siguen existiendo limitaciones que restringen su uso tanto en el campo clínico como a nivel industrial. En esta revisión se analizan las tendencias y logros del uso de dECM ósea como biomaterial biomimético, desde su uso en la generación de biotintas óseas derivadas de tejidos y células, seguidas de su aplicación como recubrimiento de andamios 3D formados por otros biomateriales, hasta el uso de la propia dECM como andamio principal. Por último, concluimos con las perspectivas de futuro sobre los retos restantes asociados a las biotintas actuales y las futuras aplicaciones de dECM.

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS BIOCOMPATIBLES RECUBIERTAS DE ORO PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Marina Lázaro Callejón, Pablo Lupiañez Escobar, Ángel Delgado y Guillermo Iglesias Salto

Laboratorio NanoMag, Departamento de Física Aplicada, Planta -1. Edificio I+D Josefina Castro. Av. de Madrid, 28. (18012). Universidad de Granada, España

RESUMEN: Las nanopartículas magnéticas (NPM) se han convertido en una herramienta de gran utilidad en el campo de la biomedicina con amplias perspectivas de futuro. Esto se debe principalmente a sus propiedades magnéticas, por las que permiten ser dirigidas a una zona específica del cuerpo mediante campos magnéticos, y servir para la encapsulación y liberación de fármacos en el desarrollo de sistemas quimioterapéuticos en la lucha contra el cáncer. Las innovadoras propiedades de las NPM, tanto desde el punto de vista superficial como transportadores de fármacos, así como la posibilidad de generar calor localizado a través de técnicas de hipertermia magnética y fototerapia hacen de ellas sistema muy novedoso. En la hipertermia magnética, si las NPM se encuentran suspendidas en medio acuoso se produce la elevación de su temperatura al aplicar campos magnéticos alternos, con frecuencias del orden de los 100-200 kHz y amplitudes en torno a 20 kA/m. En fototerapia, se aprovecha la absorción óptica que presentan las NPM en el visible e infrarrojo próximo, lo que produce también un calentamiento asociado a la absorción de radiación electromagnética. Ambos estímulos se pueden utilizar individualmente o en conjunto para mejorar su respuesta. En este trabajo se han desarrollado nanopartículas de magnetita esférica de 70 ± 12 nm, para la aplicación de fototerapia e hipertermia magnética. Se han funcionalizado recubriendo las NPMs de un polímero biocompatible (polietilenoimina PEI). Posteriormente se recubren de oro, con el objetivo de mejorar las propiedades ópticas (fenómeno de la resonancia de plasmón superficial). Como consecuencia se incrementan las prestaciones de las NPMs como agente de fototerapia. Como principal resultado de la investigación se ha observado un aumento del calentamiento tanto en hipertermia magnética como en fototerapia comparado con las nanopartículas sin recubrimiento.

La investigación realizada ha sido financiada por la Junta de Andalucía (Programa Operativo FEDER 2014-2020, A1-FQM-341-UGR-18, C-FQM-497-UGR18, P20_00346) y por el Ministerio de Economía y Competitividad (EC2019-005930-P).

EXOSOMAS DERIVADOS DE CÉLULAS T-CAR: CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL

B Perucha (1), P Heredia (1), K Pavlovic (1,2), IC Herrera (2,3), F Martín (1), JA Marchal (4,5,6) y K Benabdellah (1)

1. Departamento de Medicina Genómica, GENYO, Centro de Genómica e Investigación Oncológica, Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Av. de la Ilustración 114, 18016 Granada, España. 2. GC14 Terapia Celular, IMIBIC. Universidad de Córdoba, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba 14004, España. 3. Unidad de Hematología, Hospital Reina Sofía, Córdoba 14004, España. 4. Instituto de Investigación Biomédica (IBS. Granada), 18012 Granada, España. 5. Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España. 6. Departamento de Anatomía y Embriología Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, 18016 Granada, España. igual contribución.

RESUMEN: La inmunoterapia con células T-CAR es una de las estrategias más novedosas y eficaces en el tratamiento de leucemias y linfomas en pacientes refractarios al tratamiento convencional. Se basa en el uso de linfocitos T modificados genéticamente, que expresan en su superficie un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para células cancerosas. Estos linfocitos terapéuticos presentan una alta toxicidad y especificidad hacia las células tumorales. A pesar de los buenos resultados en diferentes ensayos clínicos en tumores hematológicos, su éxito en tumores sólidos es mucho más limitado. Estas limitaciones hacen necesario el desarrollo de enfoques complementarios capaces de mejorar las tasas de éxito sobre todo en tumores sólidos. Una de las opciones que se están considerando es el uso de exosomas derivados de células T-CAR. Los exosomas CAR+ expresan un alto nivel de moléculas citotóxicas y pueden inhibir el crecimiento del tumor. Sin embargo una de las principales limitaciones en el desarrollo de terapias basadas en exosomas es la dificultad de producir cantidades suficientes de estas nanopartículas. En nuestro laboratorio, proponemos una aplicación innovadora en el campo de la nanotecnología y la inmunoterapia basada en la mejora de la producción de exosomas CAR+ (EXO-CARs) a partir de células T anti CD19-CAR. Proponemos resolver la limitación asociada a la producción de exosomas estableciendo un protocolo de prueba de concepto, utilizando células T-CAR, y modulando la expresión de genes implicados en la biosíntesis de exosomas. Se presentarán datos preliminares que demuestran que la delección de un gen específico implicado en la biogénesis de EXOs induce un aumento en la cantidad de producción de exosomas citotóxicos según los análisis Microscopio fuerza atómica (AFM) y microscopía de barrido y NanoSight.

QUIMIOTERAPIA DIRIGIDA Y FOTOTERMIA COMBINADAS BASADA EN EL USO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS BIOMIMÉTICAS FUNCIONALIZADAS CON UN NUEVO INHIBIDOR DE CHOKOL, PL48

Pedro J. García-Vargas (1), Alberto Sola-Leyva (1), Ylenia Jabalera (2), Tamara Pozo-Gualda (2), Pilar M. Luque-Navarro (3,4), Daniela Lanari (4), Luisa C. López-Cara (3), Concepción Jiménez-López (2), Guillermo Iglesias Salto (5) and María P. Carrasco-Jiménez (1)

1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España. 2. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España. 3. Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España. 4. Department of Pharmaceutical Sciences, Universidad de Perugia, Perugia, Italia. 5. Departamento de Física Aplicada, NanoMag Laboratory. Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España.

RESUMEN: En la actualidad, el cáncer sigue siendo una de las principales causas de muerte, con un enorme coste social, económico y de salud pública. Debido a la ineficacia de los tratamientos y a la resistencia que aparece a los mismos, es necesario ampliar y/o mejorar los fármacos dirigidos contra diferentes dianas terapéuticas de esta enfermedad, con el fin de mejorar las terapias, reducir la aparición de resistencias a los fármacos y mitigar los efectos secundarios de los mismos. Se ha descrito que un gran número de diferentes tipos de cáncer muestran un metabolismo anormal del fosfolípido fosfatidilcolina (PC), debido principalmente a una mayor expresión de colina quinasa $\alpha 1$ (ChoK $\alpha 1$), lo que se relaciona con un pronóstico desfavorable de la enfermedad. Por tanto, la ChoK $\alpha 1$, además de convertirse en un marcador de la progresión tumoral, es una diana molecular en la terapia anticancerígena. En este estudio se presenta un nuevo inhibidor de ChoK $\alpha 1$ denominado PL48, que presenta átomos de azufre en el enlazador de cabezas biscatiónicas, mostrando una mayor lipofilia. Además, los pares de electrones libres de azufre permiten establecer nuevas interacciones dentro del bolsillo de unión a colina de ChoK $\alpha 1$, mejorando su afinidad por la enzima. Por otra parte, las nanopartículas magnéticas biomiméticas (BMNP) son un sistema novedoso portador de agentes quimioterapéuticos en base a sus propiedades magnéticas, sus innovadoras propiedades superficiales determinadas por el MamC, su biocompatibilidad y su capacidad como agentes de fototermia tras la exposición al láser. En este estudio se han funcionalizado las BMNPs con PL48 y hemos analizado el efecto antiproliferativo del nanoensamblaje BMNPs-PL48 en ausencia y presencia de exposición al láser en líneas celulares tumorales de diferente origen. Valoramos si este nanoensamblaje puede ser utilizado como terapia combinada en cáncer.

La investigación realizada ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (PID2019-109294RB-I00 y EC2019-005930-P) y por la Junta de Andalucía, Programa Operativo FEDER 2014-2020 (A-BIO-376-UGR18).

PÓSTERS

1. Evaluación del riesgo genético a desarrollar arteritis de células gigantes
2. Utilidad de la biopsia líquida en el seguimiento y tratamiento de pacientes con EPOC
3. Las plaquetas previenen la muerte celular y la apoptosis en líneas celulares de cáncer de próstata en condiciones de estrés
4. Asociación entre una variante genética en la región MPDZ-NF1B y queratocono: estudio de replicación en población española
5. Análisis metabolómico no dirigido para la detección de biomarcadores pronósticos en cáncer colorrectal con metástasis hepáticas
6. Osteoglicina como biomarcador de enfermedad renal diabética temprana
7. miRNAs as radio-response biomarkers for breast cancer stem cells
8. El secretoma de las células madre del cáncer en el microambiente tumoral: un enfoque clave para un tratamiento personalizado eficaz contra el cáncer
9. Validación de miRNAs como posibles biomarcadores no invasivos para patologías asociadas a diabetes mellitus tipo 2
10. Identificación de nuevos loci de riesgo para la enfermedad de Erdheim-Chester mediante un estudio de asociación de genoma completo
11. Las proteínas del reloj circadiano como biomarcadores de pronóstico y progresión en pacientes con cáncer colorrectal

EVALUACIÓN DEL RIESGO GENÉTICO A DESARROLLAR ARTERITIS DE CÉLULAS GIGANTES

Gonzalo Borrego-Yaniz (1), Lourdes Ortiz-Fernández (1), Martin Kerick (1), F. David Carmona (2), Javier Martín (1) y Ana Márquez (1,3).

1. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, CSIC, Granada, España. 2. Departamento de Genética e Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada, Granada, España. 3. Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, Hospital Clínico San Cecilio, Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Granada, España.

RESUMEN: La arteritis de células gigantes (ACG) es una enfermedad inflamatoria de los vasos sanguíneos con una etiología compleja en la que los factores genéticos juegan un papel crucial. Se ha demostrado que un diagnóstico y tratamiento temprano de la enfermedad pueden evitar la aparición de los síntomas más severos como el infarto o la ceguera. Sin embargo, su fisiopatología es aún desconocida y no existe ningún método eficaz para el diagnóstico temprano de esta enfermedad. Esta situación pone de manifiesto la necesidad de desarrollar un método de clasificación temprana de los pacientes que permita llevar a cabo decisiones médicas personalizadas así como medidas preventivas. En este sentido, los índices de riesgo poligénico (PRS del inglés Polygenic Risk Score) son un tipo de modelo predictivo que han sido aplicados con éxito a otras enfermedades complejas como el cáncer o la diabetes. Un PRS consiste en puntuar la predisposición genética de un individuo a través de la evaluación de un número limitado de variantes genéticas ligadas a la enfermedad. El cálculo de un PRS está basado en el uso de información genómica a gran escala, a menudo proveniente de un estudio de asociación de genoma completo (GWAS, del inglés Genome-Wide Association Study), necesaria para llevar a cabo la selección de las variantes genéticas a incluir en el modelo. En este trabajo, nos propusimos desarrollar un PRS en ACG con el que evaluar la predisposición genética de un individuo a padecer la enfermedad. Para llevar a cabo el PRS y evaluar su capacidad de predicción, respectivamente, definimos dos sets de datos con los que trabajar: a) un set de cálculo que incluía 2.134 casos y 11.259 controles; b) un set de validación consistente en 1.526 casos y 2.978 controles, siendo todos los individuos de ascendencia europea. Del total, 1.213 casos fueron genotipados con el Illumina Infinium Global Screening Array, mientras que los datos genómicos del resto de individuos procedían de un GWAS previo (Carmona et al., Am. J. Hum. Genet., 2017). En primer lugar, usamos el set de cálculo para realizar la selección de las variantes a incluir en el modelo de PRS. Se tomaron aquellas que se heredan independientemente ($r^2 < 0,20$) y están más asociadas a la enfermedad ($p < 5 \times 10^{-5}$). Con estas variantes, se establecieron tres modelos: i) Considerando todas las variantes que están a un nivel de significación de $p < 5 \times 10^{-5}$, ii) Realizando una selección basada en el valor p al que se consigue una mejor capacidad predictiva, iii) Seleccionando aquellas variantes que mejoran la capacidad de predicción al añadirlas al modelo ("forward selection"). Después, cada PRS se usó para puntuar el riesgo genético de los individuos del set de validación y se cuantificó su capacidad de predicción mediante el estadístico área bajo la curva (AUC, del inglés area under the curve), comparando la predicción dada con la condición real de caso/control del individuo. Para el índice de riesgo se seleccionaron 23 variantes independientes que alcanzaban el nivel de significación establecido. Al realizar la predicción considerando todas ellas, se obtuvo un AUC=0,582. Este resultado mejoró tras realizar una optimización del nivel de significación al cual se obtenía una mejor capacidad de predicción, resultando en un modelo que sólo considera las 4 variantes más asociadas a la enfermedad (AUC=0,619). Por último, al considerar la contribución de cada variante al modelo, obtuvimos el mejor resultado. Se desarrolló, por tanto, un modelo con las 4 variantes de mayor contribución (3 de ellas en común con el modelo anterior), con un AUC=0,623. A pesar de la optimización del modelo por selección de variantes, el nivel de capacidad predictiva obtenida sólo puede considerarse informativa. Estudios más amplios serán necesarios para poder evaluar de una forma sistemática la utilidad clínica de los PRS en la ACG, que probablemente deberán ir en combinación con otro tipo de marcadores biológicos y clínicos.

UTILIDAD DE LA BIOPSIA LÍQUIDA EN EL SEGUIMIENTO Y TRATAMIENTO DE PACIENTES CON EPOC

Abel García Díaz, María Pilar Molina, Pedro J Romero, Bernardino Alcazar-Navarrete, FG Ortega, Carmen Garrido-Navas, Clara Bayarri, José Expósito, José A Lorente, María José Serrano

RESUMEN: La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una enfermedad compleja y altamente heterogénea caracterizada por limitación del flujo de aire, inflamación, síntomas respiratorios y exacerbaciones que incrementan el riesgo de mortalidad y de cáncer de pulmón en estos pacientes. Los tratamientos actuales intentan controlar los síntomas crónicos y prevenir dichas exacerbaciones. El principal problema clínico es la ausencia de biomarcadores, lo que no permite una correcta evaluación tanto de la enfermedad como las respuestas a tratamientos. En este trabajo, analizamos el perfil celular y molecular usando la biopsia líquida como herramienta, y evaluar dichos perfiles como marcadores pronósticos y predictivos en pacientes con EPOC y su asociación con el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. Se recogió sangre periférica de 100 pacientes con EPOC para detectar la presencia de Células Epiteliales Circulantes (CECs), con el previo consentimiento informado firmado de todos los participantes. Las muestras se tomarán a basal, seguimiento al año y seguimiento a los dos años. Para aislar las CECs se usó la plataforma ISOFLUX, en combinación con inmunofluorescencia y análisis por ImageStream para la caracterización de estas células, además de demostrar el origen pulmonar de las mismas (trabajo en proceso). Se tuvo en consideración un grupo control en el cual no se esperan CECs (n=20). Los resultados preliminares mostraron una mediana en el número de CECs en el grupo de pacientes con EPOC de 10. (n=74), No encontrándose CECs en el grupo control (n=20). Se encontraron CECs en el grupo EPOC pero no en el grupo control. El número de CECs fue mayor en estos pacientes con un incremento de las exacerbaciones y presentando un peor pronóstico. Estos resultados preliminares demuestran que la presencia de CECs identifican el riesgo de recaída de los pacientes con EPOC y el potencial valor predictivo de este marcador.

LAS PLAQUETAS PREVIENEN LA MUERTE CELULAR Y LA APOPTOSIS EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE PRÓSTATA EN CONDICIONES DE ESTRÉS

Coral González Martínez, Jorge Cerón Hernández, María Pilar Molina Vallejo, Alba Rodríguez Martínez, María José Serrano, Jose Antonio Lorente Acosta

RESUMEN: Las plaquetas son actores activos en la tumorigénesis, aunque los mecanismos interactivos exactos y su impacto directo en las células tumorales siguen siendo en gran parte desconocidos. Estudios preliminares en nuestro laboratorio han demostrado que el cocultivo de líneas celulares de cáncer de próstata con plaquetas mejora la proliferación de las primeras e induce cambios fenotípicos, lo que sugiere que las células pueden volverse más agresivas. Una de las muchas funciones que se ha propuesto en esta interacción entre plaquetas y células tumorales es inhibir la muerte celular. Para demostrar esta hipótesis, se han realizado ensayos in vitro con diferentes líneas celulares de cáncer de próstata (LNCap, PC3 y 22RV1) y plaquetas de donantes sanos en cocultivo. Las plaquetas se obtuvieron de sangre de donante sano, que se procesó mediante centrifugación diferencial, hasta obtener la fracción plaquetaria. Se sembraron 50.000 células por pocillo en placas de 12 pocillos y se cultivaron durante 72 h en medio RPMI con FBS al 10%. Las pruebas se llevaron a cabo induciendo apoptosis a través de condiciones de estrés. La cantidad de FBS en el medio se redujo del 10 al 1%, 24 horas antes de colocar las plaquetas con las células tumorales. Esta condición se mantuvo durante el resto del experimento. Se añadieron plaquetas a la concentración fisiológica (150.000 plt / ul). El efecto sobre la muerte celular y la apoptosis en diferentes momentos (24, 48 y 72 h) se evaluó mediante citometría de flujo analizando la incorporación de 7AAD y la expresión de anexina V. Se ha demostrado que el cocultivo plaquetario previene la muerte celular y la apoptosis en la célula 22RV1 línea en estas condiciones a las 24 y 48 h (números de experimento). Por otro lado, para la línea LNCAP... Mientras que para la línea celular PC3, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ningún momento. Estos resultados sugieren que las células tumorales podrían adquirir fenotipos dinámicos debido a la interacción de las plaquetas, incluida la prevención de la apoptosis y la muerte celular.

ASOCIACIÓN ENTRE UNA VARIANTE GENÉTICA EN LA REGIÓN MPDZ-NF1B Y QUERATOCONO: ESTUDIO DE REPLICACIÓN EN POBLACIÓN ESPAÑOLA

Sara González-Muñoz, Blas Chaves-Urbano, Lara Bossini-Castillo, Miriam Cerván-Martín, Andrea Guzmán-Jiménez, Miguel Burgos, Rafael Jiménez, Jesus Merayo-Lloves, Rogelio J. Palomino-Morales, Ignacio Alcalde, F. David Carmona

RESUMEN: El queratocono es una enfermedad de la córnea caracterizada por un adelgazamiento progresivo y protrusión de la misma. Su manifestación clínica principal es una deformación cónica de la córnea, que compromete la agudeza visual debido a la distorsión de la curvatura corneal. Este trastorno ocular suele estar acompañado de miopía y astigmatismo irregular, es casi siempre bilateral y, normalmente, progresa de forma asimétrica. Además, un grosor central de la córnea (CCT) reducido es una característica clínica conocida tanto del queratocono como de otros trastornos congénitos raros del tejido conectivo. La incidencia del queratocono es aproximadamente 1/2.000 en la población general y presenta una prevalencia de 54,5 por cada 100.000. El queratocono está descrito como una enfermedad compleja y multifactorial, en la cual múltiples factores ambientales y genéticos pueden interactuar favoreciendo su aparición y desarrollo. Gracias a diversos estudios genéticos, tanto de familias como de genes candidatos y estudios del genoma completo (GWAS), ha sido posible identificar multitud de regiones genómicas asociadas a queratocono. Entre ellas, se encuentran ZNF469, FOXO1, HGF, LOX, FNDC3B, RXRA-COL5A1, RAB3GAP1, VSX1, DOCK9, MIR184, SOD1 y MPDZ-NF1B. El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs1324183 de la región comprendida entre los genes MPDZ y NF1B, implicados en la interacción proteína-proteína, el mantenimiento de la barrera epitelial de la córnea y la correcta morfología y diferenciación celular, se ha asociado con el desarrollo de queratocono en poblaciones de ascendencia europea y asiática. Por este motivo, el presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar la posible asociación entre este SNP y el queratocono en la población española. Para ello, se llevó a cabo un estudio caso-control en el que se analizaron un total de 133 pacientes de queratocono y 1.000 controles sanos. Las muestras de ADN fueron obtenidas mediante extracción de linfocitos de sangre periférica, y el genotipado se llevó a cabo usando la tecnología de discriminación alélica de TaqMan. El análisis estadístico se realizó con el programa Plink. Los resultados de este análisis no mostraron una asociación significativa entre la variante estudiada y queratocono en población española ($p=0,43$; OR=1,12), probablemente debido a una limitación en la potencia estadística. No obstante, se realizó un meta-análisis mediante el método de la varianza inversa de los datos obtenidos en españoles con aquellos correspondientes a estudios previos en otras poblaciones en un total de 10.584 individuos, lo que aumentó en gran medida la potencia estadística del estudio. Los resultados de este meta-análisis mostraron una asociación significativa entre la variante rs1324183 y la predisposición a la enfermedad ($p=4,50E-11$; OR=1,38). Adicionalmente, se llevó a cabo un estudio in silico de las anotaciones funcionales del polimorfismo mediante el uso de bases de datos públicas y se observó que la variante genética solapa con motivos de unión a factores de transcripción cuya función se relaciona con el desarrollo y morfogénesis de la córnea y otras estructuras oculares, así como con rutas bioquímicas implicadas en el metabolismo del colágeno. En conclusión, los resultados obtenidos en este trabajo, unidos a los hallazgos previamente reportados por otros autores, sugieren que la variante rs1324183 del gen MPDZ-NF1B juega un papel importante en la patogénesis del queratocono, mediante su interacción con factores de transcripción involucrados en el correcto desarrollo y función ocular, lo que la convierte en un potencial marcador genético para dicha enfermedad.

ANÁLISIS METABOLÓMICO NO DIRIGIDO PARA LA DETECCIÓN DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS EN CÁNCER COLORRECTAL CON METÁSTASIS HEPÁTICAS

Carmen González Olmedo, Caridad Díaz, Francisco José García Verdejo, Leticia Díaz Beltrán, Olga Genilloud, Francisca Vicente, Pedro Sánchez Rovira

RESUMEN: La oncología de precisión para el tratamiento personalizado en el cáncer colorrectal (CCR) está cada vez más cerca. El CCR es una enfermedad muy heterogénea desde el punto de vista molecular y esto tiene una implicación directa en las diferencias pronósticas y predictivas de respuesta al tratamiento que existen. Sin embargo, se desconocen las vías que, en concreto, causan estas diferencias, tan relevantes en la práctica clínica. Como objetivo principal en nuestro trabajo se espera caracterizar una firma metabolómica diferencial de supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) en 50 pacientes de CCR con metástasis hepáticas (MH). Para ello, el análisis metabolómico propuesto mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución, permite diferenciar pacientes con CCR y MH antes y después de la cirugía. La identificación de esta firma en pacientes post-cirugía permitiría detectar aquellos con riesgo de recidiva de la enfermedad para su inclusión en regímenes de terapia alternativas, mejorando así las tasas de supervivencia.

OSTEOGLICINA COMO BIOMARCADOR DE ENFERMEDAD RENAL DIABÉTICA TEMPRANA

Sheila González-Salvatierra, Beatriz García-Fontana, Francisco Andújar-Vera, Luis Martínez-Heredia, Raquel Sanabria-de la Torre, María Dolores Avilés-Pérez, María Hayón-Ponce, Manuel Muñoz-Torres y Cristina García-Fontana

RESUMEN: La osteoglicina (OGN) es un componente básico de la matriz extracelular vascular que actúa principalmente como regulador del metabolismo óseo. Esta proteína se encuentra implicada en diversos procesos biológicos y patológicos, sin embargo, existen pocos datos que evalúen su implicación a nivel renal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre niveles séricos de OGN y función renal en pacientes con DM2, y analizar su papel como estimador de las alteraciones renales en esta población. Para ello se realizó un estudio transversal que incluyó 147 pacientes con DM2 (65 ± 8 años, 58,5% hombres), y 75 controles sanos (63 ± 10 años, 36% hombres). El grupo de pacientes con DM2 fue dividido según el filtrado glomerular estimado (eGFR): eGFR normal (≥ 90 mL/min/1.73 m²) (n = 62) y eGFR ligeramente disminuido (< 90 mL/min/1.73 m²) (n = 85). Los niveles séricos de OGN se determinaron mediante ELISA. Se determinaron las variables independientemente asociadas con los niveles séricos de OGN mediante regresión lineal múltiple, y se realizó un análisis de regresión logística para determinar las variables predictoras de deterioro renal. La utilidad de OGN en la estimación del riesgo de enfermedad renal diabética temprana fue evaluada mediante una curva ROC. Los resultados mostraron que los pacientes con DM2 presentaron niveles significativamente más altos de OGN circulante en comparación con el grupo control (18,41 (14,45-23,27) vs. 8,74 (7,03-12,35) ng/mL; $p < 0,001$). Se observó un aumento progresivo de OGN sérica asociada a la gravedad de la disfunción renal en pacientes con DM2 (eGFR ≥ 90 mL/min/1.73 m²: 16,14 (12,13-20,48) ng/mL; eGFR < 90 mL/min/1.73 m²: 19,15 (15,78-25,90) ng/mL; eGFR < 60 mL/min/1.73 m²: 21,80 (15,06-29,22) ng/mL; $p = 0,006$). Las variables asociadas de forma independiente con el nivel sérico de OGN fueron la edad y los niveles séricos de FGF-23. Los niveles de OGN circulante actuaron como estimadores independientes del riesgo de deterioro temprano de la función renal en pacientes con DM2 (OR=1,07; IC95% (1,01-1,14); $p=0,029$). La curva ROC mostró mayor AUC al incluir en el modelo la OGN junto a las variables de riesgo de deterioro renal en comparación con el modelo sin su inclusión (0,782 vs. 0,748; $p < 0,001$). En conclusión, la OGN sérica podría actuar como un biomarcador de disfunción renal incipiente independiente de albuminuria en pacientes con DM2, por lo que su medición en la práctica clínica podría llegar a considerarse en un futuro como estrategia preventiva y terapéutica.

MIRNAS AS RADIO-RESPONSE BIOMARKERS FOR BREAST CANCER STEM CELLS

Carmen Griñán Lisón, Gema Jimenez, Elena Lopez-Ruiz, Cynthia Morata Tarifa, Sergio Granados Principal, María Isabel Nuñez and Juan Antonio Marchal

RESUMEN: In breast cancer (BC), the presence of cancer stem cells (CSCs) has been related to relapse, metastasis, and radioresistance. Radiotherapy (RT) is an extended BC treatment, but is not always effective. CSCs have several mechanisms of radioresistance in place, and some miRNAs are involved in the cellular response to ionizing radiation (IR). Here, we studied how IR affects the expression of miRNAs related to stemness in different molecular BC subtypes. Exposition of BC cells to radiation doses of 2, 4, or 6 Gy affected their phenotype, functional characteristics, pluripotency gene expression, and in vivo tumorigenic capacity. This held true for various molecular subtypes of BC cells (classified by ER, PR and HER-2 status), and for BC cells either plated in monolayer, or being in suspension as mammospheres. However, the effect of IR on the expression of eight stemness- and radioresistance-related miRNAs (miR-210, miR-10b, miR-182, miR-142, miR-221, miR-21, miR-93, miR-15b) varied, depending on cell line subpopulation and clinicopathological features of BC patients. Therefore, clinicopathological features and, potentially also, chemotherapy regimen should be both taken into consideration, for determining a potential miRNA signature by liquid biopsy in BC patients treated with RT. Personalized and precision RT dosage regimes could improve the prognosis, treatment, and survival of BC patients.

EL SECRETOMA DE LAS CÉLULAS MADRE DEL CÁNCER EN EL MICROAMBIENTE TUMORAL: UN ENFOQUE CLAVE PARA UN TRATAMIENTO PERSONALIZADO EFICAZ CONTRA EL CÁNCER

Julia López de Andrés, Carmen Griñán-Lisón, Laura de Lara Peña, Jesús Ruiz-Espigares, Gema Jiménez y Juan Antonio Marchal

RESUMEN: Las células madre del cáncer (CSC) representan una subpoblación tumoral responsable de la metástasis tumoral y la resistencia a la quimio y la radioterapia, lo que en última instancia conduce a la recaída del tumor. En consecuencia, la detección y erradicación de esta subpoblación celular representa un reto actual en la medicina oncológica. El fenotipo de las CSC depende del microambiente tumoral (TME), en el que intervienen células tumorales madre y diferenciadas, así como diferentes tipos celulares, como las células madre mesenquimales, las células endoteliales, los fibroblastos y las células del sistema inmunitario, además de la matriz extracelular (MEC), de composición diferente a la MEC de los tejidos sanos. Las CSC regulan múltiples rasgos distintivos del cáncer a través de la interacción con las células y la MEC de su entorno mediante la secreción de vesículas extracelulares, incluidos los exosomas, y de factores solubles como interleucinas, citoquinas, factores de crecimiento y otros metabolitos. A través de estos factores, las CSCs generan y activan su propio nicho tumoral reclutando células estromales y modulan la angiogénesis, la metástasis, la resistencia a los tratamientos antitumorales y su propio mantenimiento mediante la secreción de diferentes factores como la IL-6, el VEGF y el TGF- β . Debido a la fuerte influencia del secretoma de las CSC en el desarrollo de la enfermedad, las nuevas terapias antitumorales se centran en atacar estas redes de comunicación para erradicar el tumor y prevenir la metástasis, la recaída del tumor y la resistencia a los fármacos. Esta revisión resume por primera vez los principales componentes del secretoma de las CSC y cómo median en diferentes procesos tumorales. Por último, se discute la relevancia del secretoma de las CSC en el desarrollo de terapias antitumorales más precisas y personalizadas.

VALIDACIÓN DE MIRNAS COMO POSIBLES BIOMARCADORES NO INVASIVOS PARA PATOLOGÍAS ASOCIADAS A DIABETES MELLITUS TIPO 2

Luis Martínez Heredia, Francisco Andújar-Vera, Raquel Sanabria-de la Torre, Sheila González-Salvatierra, Manuel Muñoz-Torres, Beatriz García-Fontana, Cristina García-Fontana.

RESUMEN: La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica con una elevada prevalencia a nivel mundial. Las principales causas de morbilidad asociadas a la DM2 son la enfermedad cardiovascular (ECV) y la fragilidad ósea. A pesar de que la mayoría de pacientes diabéticos presentan factores de riesgo comunes, no todos desarrollan complicaciones cardiovasculares o fracturas. Hasta la fecha no existen estrategias diagnósticas tempranas para identificar a los pacientes con DM2 de mayor riesgo, por lo que la identificación de biomarcadores no invasivos sería de gran relevancia para establecer medidas preventivas y terapéuticas antes de que ocurran daños irreversibles. Los miRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante (20-25 nucleótidos) que juegan un papel importante en la modulación de diversos procesos biológicos a nivel post-transcripcional o post-traducciona. Este trabajo se centra en la identificación del perfil diferencial de miRNAs asociado a alteraciones de la arquitectura ósea y a la presencia de ECV en pacientes con DM2 a nivel sérico. Para ello, se partió de una cohorte de pacientes con DM2 (N=20) analizándose los diferentes perfiles de expresión de miRNAs en función de la presencia/ausencia de ECV (n=10 vs n=10), de microarquitectura trabecular degradada o parcialmente degradada determinada por un valor de Trabecular Bone Score (TBS) ≤ 1.326 (n=10 vs n=9), y Osteoporosis (OP) determinada por un valor de T-score ≤ -2.5 mediante densitometría ósea (n=6 vs n=13). La secuenciación de miRNAs se llevó a cabo mediante la plataforma Illumina y los miRNAs expresados diferencialmente entre los grupos de estudio con un valor de $p \leq 0.05$ se seleccionaron como potenciales biomarcadores tras realizar una revisión bibliográfica de cada uno de ellos. Se identificaron 4 miRNAs regulados a la baja (miR-1307-3p, miR-146a-5p, miR-193b-5p y miR-323a-3p) y otros 4 al alza (miR-186-5p, miR-551a, miR-3613-3p, miR-199b-5p) asociados a la presencia de ECV. En cuanto a la arquitectura ósea, se identificaron 6 miRNAs regulados a la baja (miR-193b-3p, miR-4488, miR-7976, miR-10401-3p, miR-206 y miR-4669) y 4 regulados al alza (miR-139-3p, miR-141-3p, miR-204-3p y miR-202-3p) asociados a una microarquitectura ósea degradada o parcialmente degradada y 4 miRNAs regulados a la baja (miR-483-5p, miR-320c, miR-483-3p y miR-122-5p) y solo uno regulado al alza (miR-206) asociados a la presencia de OP. Algunos de estos miRNAs no estaban descritos como marcadores de la patología de estudio y dos de ellos, aún no han sido validados. (miR-4488 y miR-4669). Tras la validación mediante paneles de qPCR customizados, podremos determinar si alguno de ellos podría actuar como biomarcador no invasivo para un diagnóstico precoz de los pacientes con DM2 de mayor riesgo.

IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS LOCI DE RIESGO PARA LA ENFERMEDAD DE ERDHEIM-CHESTER MEDIANTE UN ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO

Javier Martínez-López (1), Ana Márquez (1), Marialbert Acosta-Herrera (1), Lourdes Ortiz-Fernández (1), Matthew Koster (2), Lorenzo Dagna (3), Matthew Collin (4), Juvianee I Estrada Veras (5), Francesco Pegoraro (6), Eli Diamond (7), Julien Haroche (8), Augusto Vaglio (9,10), Javier Martin (1).

1. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, IPBLN-CSIC, Granada, Spain. 2. Rheumatology, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA. 3. Internal Medicine, San Raffaele Hospital, Milano, Italy. 4. Newcastle University, Newcastle Upon Tyne, United Kingdom. 5. National Human Genome Research Institute, NIH, Bethesda, Maryland. 6. Department of Health Science, Meyer Children's Hospital, Firenze, Italy. 7. Neuro-oncology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA. 8. Internal Medicine, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France. 9. Nephrology and Dialysis Unit, Meyer Children's Hospital, Florence, Italy. 10. Department of Biomedical, Experimental and Clinical Sciences, University of Firenze, Italy.

RESUMEN: La enfermedad de Erdheim-Chester (ECD) es un trastorno mieloproliferativo raro, definido como una histiocitosis de células no Langerhans, con un componente neoplásico e inflamatorio apreciable. Las manifestaciones clínicas son muy heterogéneas, siendo las lesiones óseas las más frecuentes y el daño al sistema nervioso central el más grave. Su etiopatogénesis no se conoce por completo, sin embargo se han descrito mutaciones somáticas, especialmente en la ruta de señalización de las MAPK, que promueven la proliferación y expansión de histiocitos mononucleares, invadiendo diferentes tejidos y órganos. Recientemente, el estudio del componente genético en ECD se ha centrado en el análisis de genes candidatos y de variación somática rara. No obstante, hasta el momento, no se ha realizado un análisis de dicho componente a nivel genómico, lo cual sería de gran utilidad para aumentar el conocimiento sobre las rutas moleculares involucradas en la patología, así como señalar posibles dianas terapéuticas. El objetivo de este trabajo es estudiar el componente genético de la ECD mediante el primer estudio de asociación del genoma completo (GWAS, del inglés "genome-wide association study"). Un total 8.266 individuos con ascendencia europea (315 casos y 7.911 controles) fueron incluidos en el estudio. El control de calidad de los datos genómicos se realizó con la herramienta PLINK y la estratificación poblacional se evaluó mediante un análisis de componentes principales utilizando el software GCTA64. Posteriormente, para maximizar el número de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) incluidos en el estudio, los datos genotipados fueron imputados con el panel de referencia TOPMed. Finalmente, para el análisis de asociación genómica se realizó una regresión logística incluyendo los 10 primeros componentes principales como covariables. Las señales que alcanzaron el nivel de significación establecido para los GWAS ($p\text{-valor} \leq 5 \times 10^{-8}$) fueron consideradas como estadísticamente significativas. Después de los controles de calidad e imputación, se incluyeron en el estudio 7.726 individuos (255 casos y 7.741 controles) y 5.178.227 SNPs. Los resultados de la regresión logística mostraron señales significativas ($p\text{-valor} \leq 5 \times 10^{-8}$) en tres regiones genómicas. La asociación más significativa se encuentra en una región intergénica del cromosoma 18, en las proximidades del gen SETBP1 ($OR=2,09$; $p\text{-valor}=2,75 \times 10^{-11}$), que está relacionado con proliferación celular. Adicionalmente, esta señal solapa con marcas de histonas, indicando un potencial papel regulador, y ha sido previamente asociada a cambios en los niveles de monocitos en sangre, un factor muy importante en el desarrollo de ECD. Las otras dos regiones asociadas se encuentran en el cromosoma 6, entre los genes ADGRF1 y TNFRSF21, y en el cromosoma 8, en el segundo intrón del gen RSPO2. Estos genes están involucrados en los procesos de crecimiento y apoptosis celular además de en la respuesta inflamatoria, lo cual es consistente con la patogénesis de la enfermedad. A pesar de no superar el umbral de significación establecido para este tipo de estudios, otras veinte regiones adicionales alcanzaron un p-valor sugestivo ($5 \times 10^{-5} \leq p\text{-valor} \leq 5 \times 10^{-8}$) y deberían tenerse en cuenta en futuros estudios con mayor poder estadístico. Mediante el primer GWAS realizado en ECD, hemos identificado tres regiones asociadas con la susceptibilidad a la enfermedad que, además, reflejan el componente neoplásico e inflamatorio de la patología. Futuros estudios con mayores tamaños muestrales serán necesarios para confirmar estos hallazgos.

LAS PROTEÍNAS DEL RELOJ CIRCADIANO COMO BIOMARCADORES DE PRONÓSTICO Y PROGRESIÓN EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL

Sara Moreno-SanJuan, Jose D. Puentes-Pardo, Alicia Martín-Lagos Maldonado, Begoña Vidal-Vilchez, Josefa León

RESUMEN: El Cáncer Colorrectal (CCR) es uno de los tipos de tumores con mayor incidencia en los países desarrollados y una de las principales causas de muerte en el mundo. En las dos últimas décadas se ha observado una disminución de la incidencia y de la mortalidad debido principalmente a los avances en prevención y detección. Sin embargo, la prognosis no ha cambiado, y un alto porcentaje de pacientes de CCR sufren recaídas tras el tratamiento, las cuales pueden ser del tipo metástasis metacrónica (más del 50% de los casos) o recurrencia local (10-20% de los casos). Por ello es necesario identificar a los pacientes que presentan una prognosis desfavorable lo cual es un proceso complejo debido a la pérdida de los marcadores pronóstico durante el tratamiento. Estos pacientes con prognosis desfavorable podrían beneficiarse de la terapia adyuvante de ahí la gran importancia de un completo y buen diagnóstico. Las células cancerosas presentan una proliferación incontrolada muchas veces resultado de la actividad aberrante de varios ciclos de proteínas, entre las que se encuentran las proteínas del reloj circadiano. Por ello, y debido a la conexión existente entre la disrupción circadiana y el desarrollo y progresión del cáncer, el objetivo de este trabajo fue analizar si existe una relación significativa entre el uso de las proteínas del reloj circadiano como marcadores de pronóstico en el CCR. Este análisis se llevó a cabo midiendo y analizando mediante inmunohistoquímica la expresión de las proteínas PER1-3, CRY 1-2, BMAL1 y NR1D2 como posibles marcadores potenciales de prognosis de la enfermedad en una cohorte de pacientes con CCR. Se observó una baja expresión de PER2 y BMAL1 que fue significativamente asociado con metástasis en el momento del diagnóstico de la enfermedad, mientras que niveles elevados de expresión de la proteína CRY1 se asoció como marcador independiente de prognosis del desarrollo de metástasis metacrónica. Una expresión elevada de la proteína NR1D2 aparece como un factor de pronóstico independiente del desarrollo de recurrencia local después del diagnóstico de la enfermedad. Además, pacientes con baja expresión de la proteína BMAL1 y una alta expresión de CRY1 muestra una baja supervivencia global y una baja supervivencia libre de enfermedad a los cinco años. Aunque estos marcadores necesitan ser evaluados en mayor medida y en diferentes cohortes étnicas, la simplicidad de la técnica de inmunohistoquímica hace de estas proteínas buenas candidatas para avanzar hacia un tratamiento más personalizado en los pacientes de CCR.

PÓSTERS

1. Estabilidad del genoma de SARS-Cov2 en aguas residuales
2. Impacto de la pandemia de COVID-19 en la actividad sanitaria de los hospitales regionales de Andalucía oriental
3. Implantación de una plataforma de cribado de alto rendimiento para el descubrimiento de nuevos compuestos anti-coronavirus

ESTABILIDAD DEL GENOMA DE SARS-COV2 EN AGUAS RESIDUALES

Barbara Muñoz-Palazón; Aurora Rosa-Masegosa; Concepción Calvo; Emilio Molero; Francisco Rueda; Maximino Manzanera; Jesús González-López; Adoración Barros-Rodríguez

RESUMEN: La pandemia de COVID19 ha provocado la muerte de más de 5 millones de personas a nivel mundial. Además, ha originado la saturación y en ocasiones el colapso de los sistemas de salud, generado numerosas muertes y complicaciones asociadas a este acceso irregular a los sistemas de salud. Para evitar estas alteraciones se recomienda el seguimiento de las zonas y poblaciones más afectadas por la pandemia para proponer medidas más restrictivas de movilidad en función de la incidencia de la infección. Por otra parte, las distintas variantes del virus que aparecen a lo largo del tiempo pueden suponer un riesgo para la principal herramienta de control que se basa en la vacunación masiva de la población. El seguimiento de la extensión de la pandemia de COVID19, y de las diversas variantes del virus SARS-CoV2 que inciden en un momento dado, se puede realizar a través del análisis por RT-PCR de las aguas residuales. Sin embargo, para que la caracterización tenga un suficiente nivel de confianza, es necesario garantizar que el genoma del virus permanezca intacto en las zonas donde hibridan los oligonucleóticos para que las RT-PCRs den una información fidedigna del nivel de incidencia. En este estudio hemos realizado un mapa de la estabilidad del genoma del virus SARS-CoV2 en aguas residuales reales en distintos periodos de incubación a lo largo del desplazamiento del virus a través de la red de saneamiento de la ciudad de Baza (Granada, España). De esta forma, en este trabajo proponemos las secuencias más apropiadas de oligonucleótidos para los ensayos de RT-PCR en base a muestras recogidas en aguas residuales.

IMPACTO DE LA PANDEMIA DE COVID-19 EN LA ACTIVIDAD SANITARIA DE LOS HOSPITALES REGIONALES DE ANDALUCÍA ORIENTAL

Antonio López-Villegas, Rafael Jesús Bautista-Mesa, Miguel Angel Baena-Lopez, Antonio Garzón-Miralles, Miguel Ángel Castellano-Ortega, Cesar Leal-Costa, Salvador Peiró

RESUMEN: El gran brote mundial del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ha sobrecargado los sistemas de salud pública y reducido la actividad sanitaria habitual, lo que ha provocado una importante crisis sanitaria. El objetivo principal de este estudio fue realizar una evaluación comparativa de las actividades sanitarias en los hospitales de Andalucía Oriental, España. En este estudio se adoptó un enfoque observacional, multicéntrico y retrospectivo comparando la actividad asistencial del Hospital de Poniente (HP) y la Agencia de Salud del Alto Guadalquivir (ASAG). Se seleccionó información correspondiente a un período de 24 meses, es decir, del 1 de enero de 2019 al 31 de diciembre de 2020, y las variables evaluadas fueron: pacientes atendidos en el servicio de urgencias hospitalarias (SUH), radiografías realizadas, pacientes citados en consulta externa, consultas, intervenciones quirúrgicas realizadas y pacientes incluidos en lista de espera. El análisis de las variables antes mencionadas reveló una diferencia significativa en el número de pacientes registrados en 2020 en SUH en comparación con el de 2019 tanto para el HP ($p = 0,002$) como para la ASAG ($p < 0,001$). Además, el número de intervenciones quirúrgicas en 2020 fue significativamente diferente al de 2019 tanto para el HP ($p = 0,001$) como para la ASAG ($p = 0,009$). Además, para el HP ($p < 0,001$), se observó una diferencia significativa en el número de pacientes en lista de espera en el año 2020 con respecto al 2019; sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la lista de espera entre los años 2020 y 2019 para la ASAG ($p = 0,446$). En 2020, el número de teleconsultas fue significativamente diferente al de 2019 tanto para el HP ($p < 0,001$) como para la ASAG ($p = 0,006$). En conclusión, el análisis realizado indica que en el año 2020, con respecto al 2019, la actividad asistencial se redujo significativamente en la mayoría de los parámetros incluidos en este estudio.

IMPLANTACIÓN DE UNA PLATAFORMA DE CRIBADO DE ALTO RENDIMIENTO PARA EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS COMPUESTOS ANTI-CORONAVIRUS

Blanca Martínez-Arribas, Frederick Annang, Rosario Díaz-González, Carmen Ramos-Martín, Francisco Castillo, Luis Miguel Ruiz-Pérez, Francisca Vicente, Dolores González-Pacanowska

RESUMEN: Los coronavirus (CoVs) son virus que tienen la capacidad de propagarse y generar nuevas especies causando enfermedades epidémicas. Concretamente, los CoVs responsables del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) y del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) suponen un desafío ya que la disponibilidad y efectividad de fármacos antivirales es muy limitada. Para contribuir a dar respuesta a la emergencia sanitaria que supone la pandemia de Covid-19, se ha establecido una plataforma de cribado de alto rendimiento para la búsqueda de compuestos anti coronavirus en colaboración con la Fundación MEDINA. Usando como modelo el betacoronavirus HCoV-OC43 queremos explotar el potencial antiviral de la colección de compuestos naturales de origen microbiano de la Fundación MEDINA. Se ha establecido un ensayo primario para la detección de la inhibición del efecto citopático (CPE) en células MRC-5 infectadas con HCoV-OC43 tras 96h en presencia de los extractos. Se ha realizado un primer ensayo piloto en el que se han analizado hasta la fecha 1280 extractos y se han seleccionado como hit aquellos extractos que mostraron una inhibición del CPE por encima del 80%. Además, se ha desarrollado un ensayo secundario para el análisis de células infectadas con HCoV-OC43 mediante cribado de alto contenido (HCS) por microscopía de fluorescencia. El análisis de la composición de los extractos y la posterior identificación de los compuestos bioactivos puede conducir a la identificación de nuevos productos naturales con capacidad antiviral.

PÓSTERS

1. Estudio de viabilidad y calidad comparativa de dietas a partir de componentes del olivo. Evaluación de los efectos antioxidantes
2. Gene expression profiles of visceral and subcutaneous adipose tissues in children with overweight or obesity: the KIDADIPOSEQ project
3. Identificación de las fuentes de exposición a bisfenol A en población deportiva andaluza
4. Nutritional and functional properties of Bowman-Birk inhibitors from legumes in food and feed
5. Minerales traza y ultra traza en placenta y su relación con la ganancia de peso durante el embarazo. Proyecto GESTAFIT
6. Estudio de bioaccesibilidad de Ca, Mg y Zn en quesos brasileños. Relación con sus propiedades antioxidantes
7. Efecto del consumo de fermentados lácteos de cabra y vaca sobre el biomarcador de la función inmune (interferon- γ) durante la recuperación de la anemia ferropénica
8. Estimación de la ingesta de obesógenos ambientales en la población escolar a través de la evaluación de los principales grupos de alimentos
9. Determinación de disruptores endocrinos en uña humana mediante UHPLC-MS/MS
10. Influencia del ámbito de preparación en el contenido de HMF y furfural en alimentos procesados comúnmente consumidos por la población española
11. Capacidad antioxidante, detoxificante y antiproliferativa in vitro de extractos vegetales procedentes de semillas brasicáceas
12. Una herramienta sencilla para evaluar la ingesta total de polifenoles de la dieta
13. Extracción de compuestos fenólicos a partir de subproductos vegetales mediante técnicas de extracción green
14. Péptidos antihipertensivos en aceite de oliva virgen
15. Alteraciones hepáticas durante el desarrollo de la obesidad en un modelo experimental: aproximación terapéutica nutricional y farmacológica
16. Evaluación del rendimiento de extracción de compuestos fenólicos en hoja de olivo tratada con campos eléctricos pulsados
17. Comparación del nivel de calidad de cuatro dietas estandarizadas para roedores
18. Determinación de disruptores químicos obesógenos en saliva en una población escolar mediante cromatografía líquida
19. Marcadores de estrés oxidativo en la carne del cerdo ibérico en condiciones de estrés por calor
20. Implicaciones de la familia de proteínas aldehído deshidrogenasa (ALDH) de semilla de olivo en alimentación funcional y salud
21. Evaluación de la bioaccesibilidad de compuestos antiinflamatorios de la hoja de olivo microencapsulados en el proceso de digestión in vitro estática
22. Asociación entre la exposición postnatal a bisfenoles y ftalatos y el neurodesarrollo infantil
23. Caracterización nutricional y metabolómica de 12 especies de flores comestibles
24. Identificado el dominio funcional de las proteínas conglutinas β de altramuz (*Lupinus angustifolius*) implicado en sus propiedades nutraceuticas
25. Un extracto de hoja de olivo enriquecido en oleuropeína reduce las alteraciones funcionales causadas por la agregación de proteínas tau en un modelo de enfermedad de Alzheimer en *Caenorhabditis elegans*
26. Fomento de la explotación de hoja de olivo para la producción de nutraceuticos con actividad antiinflamatoria intestinal (INTESOLIVE)

ESTUDIO DE VIABILIDAD Y CALIDAD COMPARATIVA DE DIETAS A PARTIR DE COMPONENTES DEL OLIVO. EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANTIOXIDANTES

Elena Lima-Cabello, Carlos Acal, M^a Mar García-Romero, Avilene Rodríguez, José C. Jimenez-Lopez, Juan de Dios Alché

RESUMEN: Las actividades medicinales y farmacológicas de las plantas han llevado a los investigadores del sector alimentario a utilizarlas en el diseño de nuevos productos alimentarios funcionales y a evaluar su efecto sobre la calidad del producto y la aceptabilidad del consumidor. El hueso de aceituna (*Olea europaea* L.) representa un subproducto tanto de la industria de la aceituna de mesa como de la del aceite de oliva. La semilla de la aceituna es un órgano de almacenamiento que acumula una gran concentración de nutrientes, especialmente proteínas como las leguminas, vicilinas y albúminas, así como otros numerosos compuestos de interés que incluyen lípidos, fibra y nutraceuticos como los polifenoles. La literatura reciente demuestra que la germinación de las semillas aumenta drásticamente el contenido fitoquímico y los compuestos bioactivos de los brotes en comparación con las semillas. En este sentido, la semilla de olivo podría aplicarse como fuente nutricionalmente inexplorada de brotes. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad nutricional y los beneficios para la salud de las dietas enriquecidas con semillas y brotes de olivo en ratones, centrándose en la expresión de genes relacionados con el estrés oxidativo e inflamación. Además se realizó un análisis proximal de las dietas y una evaluación sensorial de las diferentes dietas para ratones durante cuatro semanas. En el estudio in vivo, se adquirieron dieciocho ratones (18 machos y 18 hembras) y se mantuvieron en el Animalario del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Granada (CIBM). Todos los ratones fueron divididos aleatoriamente en tres grupos de machos y tres grupos de hembras; Grupo de dieta control (dieta estándar suministrada a los ratones en el animalario) (C):n=6; Grupo de dieta control suplementada con semillas de olivo (SO):n=6; y Grupo de dieta control suplementada con brotes de olivo (SPO): n=6. Cada grupo experimental se mantuvo en jaulas a 24° C y ciclos luz/oscuridad de 12 h, con acceso a agua y a sus respectivas dietas experimentales ad libitum. Durante los experimentos, se midió semanalmente el peso corporal y consumo de pienso. Transcurridas las cuatro semanas se les anestesió y se les extrajo sangre mediante punción cardiaca siguiendo la legislación relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos (DO L 28/49-04/02/201). El plasma fue almacenado a -20°C para los posteriores experimentos. En las muestras de plasma se determinó la capacidad antioxidante y se cuantificó el óxido nítrico y la interleuquina 1β mediante ELISA. Los animales (tanto machos como hembras) que se alimentaron tanto con la dieta enriquecida en semillas como con brotes presentaron un mayor consumo con respecto a la dieta habitual del animalario. La suplementación con semillas produjo un aumento de peso en los animales con respecto a la dieta enriquecida con brotes de olivo y a la dieta control. Los animales que se alimentaron tanto con las dietas suplementadas con semilla como con brotes de olivo presentaron una mayor capacidad antioxidante, niveles reducidos de óxido nítrico y una menor expresión de la IL-1β en plasma en comparación con la dieta control. Los resultados obtenidos demuestran la capacidad nutricional de las semillas y germinados de olivo en un modelo animal simple (ratón) y la influencia de su consumo sobre parámetros inflamatorios. La incorporación de compuestos bioactivos a los alimentos funcionales es un mercado en expansión. La atención del consumidor en materia de bienestar ha aumentado rápidamente hacia una dieta fortificada que proporciona efectos adicionales para la salud.

GENE EXPRESSION PROFILES OF VISCERAL AND SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUES IN CHILDREN WITH OVERWEIGHT OR OBESITY: THE KIDADIPOSEQ PROJECT

Mireia Bustos-Aibar, Augusto Anguita-Ruiz, Álvaro Torres-Martos, Jesús Alcalá-Fdez, Francisco Javier Ruiz-Ojeda, Marjorie Reyes-Farías, Andrea Soria-Gondek, Laura Herrero, David Sánchez-Infantes, Concepción María Aguilera

RESUMEN: La obesidad infantil es una enfermedad multifactorial que influye en el desarrollo de una serie de trastornos metabólicos, en los que se ha demostrado que el tejido adiposo es fundamental. El tejido adiposo puede distribuirse por todo el cuerpo como tejido adiposo visceral (VAT, del inglés) y tejido adiposo subcutáneo (SAT) y existen considerables diferencias anatómicas entre ambos tejidos. Es importante destacar que el VAT se asocia con la inflamación sistémica de grado bajo y la resistencia a la insulina, los cuales son factores clave que subyacen a las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad infantil. El objetivo de este estudio es identificar las firmas moleculares asociadas a la obesidad y sobrepeso en niños, diferenciando entre las firmas compartidas e individuales en el VAT y el SAT. Se recogieron muestras de ambos tejidos de 18 niños/as (11 niñas) hospitalizados para cirugía abdominal y con edades comprendidas entre los 0,54 y 16,63 años, de los que sólo 6 niños/as (2 niñas) tenían sobrepeso u obesidad. Se realizó un análisis de RNaseq para identificar patrones de expresión génica asociados a la obesidad y el sobrepeso en cada tejido. En el VAT hubo 759 genes que mostraron una expresión diferencial estadísticamente significativa entre los grupos (valor p nominal $< 0,05$), de los cuales 48 superaron un umbral de FDR de 0,05. En el SAT había 944 genes que mostraban una expresión diferencial estadísticamente significativa, de los cuales 28 superaban el umbral de FDR. Entre los genes significativamente asociados, hubo 126 genes comunes, asociados con sobrepeso y obesidad en ambos tejidos. Los resultados fueron validados con genes cuya influencia en la obesidad ha sido descrita previamente (p.ej., LEP) e identificamos nuevas dianas moleculares para la patología, destacando los resultados de VAT (i.e., XIST, PRKY y TTY10). Por lo tanto, en nuestro estudio identificamos patrones de expresión génica independientes y comunes en el VAT y SAT asociados con el sobrepeso y la obesidad en niños. Comprender la arquitectura molecular de la obesidad con enfoques como éste es crucial para la identificación de potentes objetivos moleculares y el desarrollo de terapias eficaces de medicina de precisión.

IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE EXPOSICIÓN A BISFENOL A EN POBLACIÓN DEPORTIVA ANDALUZA

Cantero-Ballesteros L, López-Moro A, Conde-Pipo J, Jimenez-casquet MJ, Olea-Serrano F, Mariscal-Arcas M.

RESUMEN: El Bisfenol A es una sustancia utilizada desde los años 60, con fines industriales, está presente en gran cantidad de plásticos (ej. policarbonato) utilizados en nuestro día a día, como en los envases de alimentos y bebidas, de la cual se han realizado gran número de estudios que demuestran sus efectos adversos sobre la salud del ser humano, es considerada disruptor endocrino. Los disruptores endocrinos son sustancias químicas capaces de alterar el sistema endocrino, y por tanto alteran el equilibrio hormonal y la regulación del desarrollo embrionario y fetal, teniendo efectos perjudiciales sobre la salud de los organismos y sus descendientes. La principal fuente de exposición a esta sustancia es a través de la dieta en todos los grupos de población, lo que nos hizo plantearnos nuestro objetivo en este estudio, conocer las diversas fuentes de exposición alimentaria al Bisfenol A. Aunque es una sustancia admitida actualmente en la fabricación de plásticos y con Ingesta Diaria Tolerable establecida (4 µg/Kg/día), la EFSA sigue reevaluando estudios para llegar a conclusiones más certeras en 2020. Para poder conocer las diferentes fuentes de exposición a Bisfenol A en población deportiva en Andalucía, primero hemos investigado cuáles son sus hábitos alimentarios. Al tratarse de una población procedente de la zona sur de España, presentan un patrón alimentario cercano al de la Dieta Mediterránea, la cual han heredado generación tras generación. Tras recopilar información sobre los hábitos llevando a cabo diferentes encuestas se estimó que esta población presenta una dieta similar al Patrón de Dieta Mediterránea, rica en alimentos de origen vegetal, con el aceite de oliva como grasa principal, frutos secos y el pan consumido a diario; aunque también se observan hábitos similares a la Dieta Occidental, con un mayor consumo de productos envasados y preparados, embutidos y fruitivos. En la población actual, la mayoría de los alimentos consumidos se encontraban en envase de plástico, lo que confirma que la mayor fuente de exposición a Bisfenol A es a través de la dieta, aunque existen diferencias dependiendo del grupo de alimentos (ej. las frutas, más consumidas sin envase). Una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea reduce las fuentes de exposición alimentaria a Bisfenol A, ya que se basa principalmente en productos frescos sin envasado, lo que es interesante para llevar a cabo educación nutricional por parte de Dietistas-Nutricionistas a la población, especialmente, a los grupos más vulnerables como niños, adolescentes y mujeres embarazadas.

NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BOWMAN-BIRK INHIBITORS FROM LEGUMES IN FOOD AND FEED

Alfonso Clemente^{1}, María del Carmen Marín-Manzano¹, Raquel Ollas¹, Antonio J. Castro¹, Jose Carlos Jiménez-López¹, Luis A. Rubio¹, Claire Domoney²*

¹Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada, Spain. ²John Innes Centre, Norwich, United Kingdom

RESUMEN: Bowman-Birk inhibitors (BBI) are canonical serine protease inhibitors, abundant in legume seeds like soybean, chickpea, lentil and pea. They have attracted the attention of the scientific community as anti-nutritional proteins when included in animal feed but also as naturally-occurring chemopreventive agents in human nutrition. BBI from legumes usually contain two functional protease inhibitory domains, that interact with serine proteases, predominantly trypsin- and chymotrypsin-like proteases. The conformational rigidity of BBI linked to the distribution of seven intramolecular disulphide bonds is mostly responsible for the high stability of these dietary proteins and helps to maintain their structural and functional features. In last years, we have investigated whether natural and induced mutations in BBI can be exploited with the aim of improving seed protein quality. For this purpose, we have used a collection of TILLING (Targeted Induced Local Lesions IN Genomes) mutants of pea as well as a germplasm collection, representing the diversity of the genus *Pisum*, in order to investigate mutations that reduce or abolish the activity of BBI. In relation to the TILLING mutants that affected the TII inhibitor, which has two inhibitory domains with the ability to inhibit trypsin and chymotrypsin, the C77Y substitution abolished both anti-trypsin and anti-chymotrypsin activity, consistent with the absolute requirement of the C77-C92 disulfide bridge to maintain its inhibitory activity. The alternative strategy was to evaluate a collection of *Pisum* germplasm, identifying an entry from *Pisum elatius* that showed a double mutation in the genes encoding TII1 and TII2, the major protease inhibitors present in *Pisum* seeds. The double mutant showed extraordinarily low inhibitory activity, and introgression of the mutation into cultivated germplasm was successful. We are currently evaluating the effect of BBI on the utilization of pea proteins and their effects on animal production performance (broilers). The aberrant functioning of certain serine proteases in inflammatory and carcinogenic processes of the gastrointestinal tract (GIT) has led our group to investigate the potential of these BBI as modulators of their proteolytic activities. Physiologically relevant amounts of active BBI reach the large intestine due to their extraordinary resistance to the extreme conditions of the GIT. Our research has demonstrated a dose-dependent anti-proliferative effect of BBI isoforms from pea, lentil and soybean in colon cancer cells. Our group has also investigated the preventive effect of a pea albumin extract enriched in BBI in mice with induced ulcerative colitis. Recently, we have demonstrated the internalization capacity of CyDye-tagged soybean major BBI proteins, IBB1 and IBB2, in colorectal cancer cells by confocal microscopy. In order to investigate the relationship between serine protease inhibitory activity, protein structure and beneficial effects of BBI proteins on gastrointestinal health, we have designed a set of BBI mutants, using as a template the pea TII1 isoform with the ability to inhibit trypsin and chymotrypsin-type enzymes. In this way, we obtained an inactive TII1 mutant, as well as variants exhibiting trypsin or chymotrypsin inhibitory activity only. The TII1 mutant proteins were expressed in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*, with the ability to produce proteins enriched in disulfide bridges. Although the different TII1 mutants were internalized in HT29 colon cancer cells, only those recombinant isoforms with protease inhibitory activity exerted an anti-proliferative effect in a dose-dependent manner. These studies suggest that trypsin and chymotrypsin-type enzymes could be possible therapeutic targets in colorectal cancer and inflammatory processes. The validation of candidate enzymes as clinical targets is underway.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2017-83772-R y P20_00242 del Ministerio de Ciencia e Innovación y Junta de Andalucía, respectivamente.

MINERALES TRAZA Y ULTRA TRAZA EN PLACENTA Y SU RELACIÓN CON LA GANANCIA DE PESO DURANTE EL EMBARAZO. PROYECTO GESTAFIT

Lara Crespo-Antolín (1,2), Cristina Sánchez-González (1,2), J. Llopis- González (1,2), Lorenzo Rivas-García (2), Virginia A Aparicio (1,2).

1. Centro de Investigación en Deporte y Salud. Universidad de Granada, C/. Menéndez Pelayo 32. 18016 Armilla, Granada, España 2. Centro de Investigación Biomédica, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix Verdú". Departamento de Fisiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Avda. del Conocimiento s/n. 18100 Armilla.

RESUMEN: En línea con la teoría de los primeros 1000 días de vida, los hábitos maternos modulan el correcto desarrollo fetal y la placenta es el órgano que facilita el transporte de nutrientes, el intercambio de gases, y favorece el crecimiento, la inmunoprotección y el desarrollo del feto. La placenta también protege al feto contra infecciones, toxinas, moléculas xenobióticas y enfermedades maternas. Además, produce una gran variedad de metabolitos, muchos de los cuales participan en la producción de energía. Lograr un aumento de peso gestacional adecuado es también imprescindible para un mejor estado materno fetal. Sin embargo, sólo el 32% de las embarazadas cumplen este criterio y más del 60% tiene una ganancia de peso excesiva. Aún se desconoce la relación entre el aumento de peso gestacional de la madre y los minerales traza y ultra traza de la placenta de importancia tóxica o metabólica. En el presente estudio, se evaluó la concentración de minerales traza y ultra traza mediante ICP-MS en 50 placentas de mujeres embarazadas de Granada participantes en el proyecto GESTAFIT. Se encontró una fuerte asociación directa entre el peso materno y el contenido de Pb en la placenta ($P < 0,01$). Además, el aumento de peso materno se asoció con un mayor contenido de Al ($P < 0,05$) y un menor contenido de K ($P < 0,05$) y Cu ($P < 0,05$). En general, una mayor ganancia de peso gestacional se asoció con una peor composición de minerales traza y ultra traza en las placentas.

ESTUDIO DE BIOACCESIBILIDAD DE CA, MG Y ZN EN QUESOS BRASILEÑOS. RELACIÓN CON SUS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Cristina Delgado-Andrade, José Luan da Paixão Teixeira, Juliana Azevedo Lima Pallone, Isabel Seiquer

RESUMEN: Los quesos son un producto lácteo de alto valor nutricional para el consumo humano debido a que son fuente de proteínas, lípidos, vitaminas y minerales. En los últimos años el consumo de queso de la población brasileña se ha incrementado en un 2.7% anual, siendo el “Minas fresco” el lácteo más comercializado por la industria caprina brasileña [1]. La alta demanda de queso de cabra se debe a su alta digestibilidad y menor aporte calórico comparado con el de vaca, más rico en colesterol y otras grasas [2], por lo que se le atribuyen propiedades más saludables [3]. El queso de cabra es una fuente importante de Ca, Mg y también de Zn, pero estos minerales deben ser liberados de la matriz alimentaria en el proceso digestivo antes de que puedan ser absorbidos en el intestino, es decir, necesitan ser bioaccesibles. La bioaccesibilidad puede ser estudiada empleando el procedimiento de digestión gastrointestinal in vitro INFOGEST. Este método tiene en cuenta el tipo, origen y actividad de las enzimas; la duración de las etapas digestivas; el pH y la fuerza iónica, que han sido consensuados internacionalmente al objeto de estandarizar un protocolo único para toda la comunidad científica [4]. Durante el proceso de elaboración del queso se aplican diferentes operaciones tecnológicas (tratamientos térmicos, homogenizaciones, presiones o coagulaciones) que pueden afectar la estructura de los constituyentes de la leche. En ocasiones, tiene lugar la formación de compuestos bioactivos capaces de ejercer propiedades saludables, como las antioxidantes [5]. Además, el proceso digestivo puede conducir a la aparición de péptidos bioactivos que combinen actividad quelante de minerales, como el Zn, con capacidad antioxidante [6] y, en definitiva, afectar la disponibilidad mineral. El objetivo de este estudio fue analizar la bioaccesibilidad de Ca, Mg y Zn de diferentes tipos de quesos brasileños aplicando el protocolo estandarizado INFOGEST. Además, se evaluaron las propiedades antioxidantes de los los quesos antes y después del proceso de digestión para conocer la relación entre la bioaccesibilidad mineral y el perfil antioxidante. Se analizaron dos quesos frescos, Minas fresco de vaca y cabra producidos en planta piloto, y dos quesos curados de cabra comerciales, Blue y Piramide do Bosque. La bioaccesibilidad in vitro tras digestión estuvo en los rangos 44.4-74.7%, 54.8-66.1% y 18.2-38.7% para Ca, Mg y Zn, respectivamente, y se vio significativamente afectada por el contenido inicial de minerales y grasa. El queso fresco Minas fresco mostró la mayor cantidad de Ca y Mg soluble. Se evidenció que la digestión gastrointestinal tenía un efecto positivo en el potencial antioxidante de los quesos y que la actividad presente en la fracción soluble se correlacionaba en distinto grado con la bioaccesibilidad mineral. Esto sugiere que durante el proceso digestivo pudieron formarse compuestos bioactivos con alta capacidad antioxidante y con acción quelante de minerales, por tanto, modulando su bioaccesibilidad. El proceso de curado influyó positivamente el poder antioxidante de los quesos. Nuestros resultados apuntan que el consumo de los quesos brasileños analizados puede representar una contribución esencial a la ingesta diaria recomendada de Ca y Mg y ser una fuente interesante de aporte de Zn a la dieta.

[1] IBGE, 2018. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, <http://www.ibge.gov.br>. [2] Haenlein, G. y Anke, M., 2011. Small Rumin. Res. 95, 2-19. [3] Moreira, R.V. et al., 2019. J. Dairy Sci. 102, 2966-2972. [4] Minekus, M., et al., 2014. Food Funct. 5, 1113-1124. [5] Santiago-López, L. et al., 2018. J. Dairy Sci. 101, 3742-3757. [6] Silva, R.A. et al., 2012. Food Chem. 135, 1533-1538.

EFFECTO DEL CONSUMO DE FERMENTADOS LÁCTEOS DE CABRA Y VACA SOBRE EL BIOMARCADOR DE LA FUNCIÓN INMUNE (INTERFERÓN- γ) DURANTE LA RECUPERACIÓN DE LA ANEMIA FERROPÉNICA

García-Burgos M, Moreno-Fernández J, Soriano-Lerma A, Díaz-Castro J, Alférez MJM, López-Aliaga I

RESUMEN: Actualmente, la anemia ferropénica es una de las enfermedades más frecuentes en el mundo. Es un importante problema de salud pública en el que la pérdida de hierro o su requerimiento supera la contribución proporcionada por la dieta, por lo que los depósitos de hierro se agotan. A pesar de la evidencia científica que indica que la deficiencia de hierro altera la función normal del sistema inmunológico y que los productos lácteos fermentados pueden mejorar la función inmunológica, se sabe poco sobre el efecto del consumo de leche fermentada de cabra o vaca sobre la modulación de la respuesta inmunitaria durante la deficiencia de hierro y su recuperación. Este estudio tiene como objetivo evaluar la influencia del consumo de una dieta basada en fermentados lácteos de cabra sobre el interferón- γ (INF- γ) como biomarcador que permite evaluar la función inmune en un modelo de anemia por deficiencia de hierro después de la recuperación con una dieta a base de leche de cabra fermentada, evaluando sus efectos sobre el biomarcador de la función inmunológica. Para ello ochenta ratas Wistar albino macho recién destetadas se sometieron a un período preexperimental de 40 días, divididas en un grupo control (dieta con contenido normal de Fe: 45 mg/Kg dieta) y un grupo anémico (dieta deficiente en hierro: 5 mg/Kg dieta). Posteriormente se inició un período experimental en el que fueron alimentadas durante 30 días con dietas a base de un producto de leche fermentada de cabra o vaca, con contenido normal o sobrecarga de hierro. Los resultados preliminares muestran que el consumo de una dieta basada en fermentados lácteos de cabra dio lugar a un aumento de los niveles séricos de interferón- γ en los grupos control y anémico, ya sea con un contenido normal o alto de hierro ($P < 0,01$) en comparación con los animales alimentados con los productos lácteos fermentados de vaca. En conclusión, el consumo de una dieta basada en fermentados lácteos de cabra da lugar a un aumento de la expresión de interferón- γ . Este aumento se puede atribuir a los factores bioactivos de la leche de cabra fermentada, como proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, oligosacáridos y micronutrientes, que confieren colonización inmunológica de la microbiota intestinal mejorando el desarrollo intestinal y disminuyendo la inflamación. Este estudio muestra que el consumo de leche de cabra fermentada durante la recuperación por deficiencia de hierro mejora la función inmunológica, debido a la mejora de la homeostasis del hierro, de gran importancia para el funcionamiento normal del sistema inmunológico.

ESTIMACIÓN DE LA INGESTA DE OBESÓGENOS AMBIENTALES EN LA POBLACIÓN ESCOLAR A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE ALIMENTOS

María del Valle Giles Mancilla, Helga Castillo, Patricia González, Celia Monteagudo, Cristina Samaniego, Ana Rivas

RESUMEN: La ingesta de alimentos frescos, como frutas y vegetales, se encuentra por debajo de las recomendaciones. Este hecho puede ser debido, en parte, a una pérdida de la adherencia a la Dieta Mediterránea (DM), así como a un estilo de vida poco saludable durante las últimas décadas. Este comportamiento se ha visto que tiene efectos negativos sobre la salud, pues puede promover el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ENT), como la obesidad, el cáncer o la diabetes, entre otras. Además, una baja adherencia a la DM supone un incremento en el consumo de alimentos ultra-procesados, los cuales se encuentran envueltos en materiales plásticos, lo que significa una mayor ingesta de obesógenos medioambientales presentes en plásticos como los bisfenoles y ftalatos, o el uso de conservantes artificiales como los parabenos. El objetivo del estudio consiste en evaluar los grupos de alimentos más representativos en la contribución energética y de nutrientes de una población escolar para su uso en la estimación de la ingesta de obesógenos medioambientales. Para ello, la población objeto de estudio son escolares. Para evaluar la ingesta de nutrientes se utilizó el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) de 32 ítems alimentarios. De las respuestas obtenidas de cada ítem se obtuvo el promedio de ingesta diaria de cada niño, y permitió calcular la ingesta media diaria de energía y cada nutriente (macronutrientes y micronutrientes). Posteriormente, se hizo uso del programa estadístico IMS-SPSS Statistics, donde se realizó una regresión lineal paso por paso. A partir de ésta se obtuvieron los principales alimentos que aportan el 95 % de la ingesta energética, macronutrientes y micronutrientes. Los resultados del análisis de la regresión lineal mostraron que, entre los alimentos más destacados en el aporte energético se encuentran el pollo (33%), el zumo (16%) y la leche (12%). De la misma forma, el análisis determinó que los alimentos con mayor aporte de carbohidratos son el zumo (35%), el arroz (19%) y la fruta (15%). En referencia con el aporte de proteínas encontramos el pollo (46%), la carne roja (15%) y el pescado (11%), y en el caso del aporte lipídico destacan las patatas fritas (33%), la leche (29%) y dulces caseros (12%). El calcio fue aportado principalmente por productos lácteos y el hierro por alimentos como el pescado. Los resultados del estudio reflejan la falta de adherencia a patrones saludables como la dieta mediterránea entre la población adolescente, pues grupos de alimentos como la fruta, las verduras, los cereales y las legumbres no están presentes en cantidades suficientes en su alimentación, mientras que alimentos con un alto contenido de proteínas así como alimentos ultra-procesados tienen un papel importante en los porcentajes de nutrientes estudiados. La alta ingesta por parte de la población de estudio de procesados envueltos en materiales plásticos así como la exposición a conservantes artificiales, supone un alto consumo de obesógenos ambientales. Es necesario establecer programas nutricionales en la población escolar con el objetivo de promover una mayor adherencia a la DM y reducir la toma de alimentos ultra-procesados.

DETERMINACIÓN DE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN UÑA HUMANA MEDIANTE UHPLC-MS/MS

Gómez-Regalado MC., Martín-Pozo L., Giles-Mancilla MV, Cantarero Malagón S., Rivas A., Zafrá-Gómez A

RESUMEN: Debido a la rápida industrialización, se ha incrementado la exposición humana a ciertos compuestos químicos que tienden a bioacumularse en el cuerpo y que pueden llegar a tener efectos adversos en la salud, conocidos como disruptores endocrinos. Numerosos estudios relacionan su actividad con el desarrollo de algunos tipos de cáncer dependientes de hormonas o alteraciones metabólicas además del comportamiento obesogénico, siendo la dieta una de las principales vías de exposición. Entre ellos, destacan los parabenos (PBs) y el bisfenol A (BPA), así como sus análogos [1,2]. El objetivo del estudio fue determinar bisfenoles y parabenos con actividad obesogénica en uña humana. Para ello, se tomaron muestras de uña humana de voluntarios. Se realizó previamente una extracción metanólica alcalina (hidróxido de sodio, 0.04 g L⁻¹) con una incubación de 15 horas a 30 °C. Posteriormente, se realizó el análisis de estos compuestos mediante UHPLC-MS/MS. Los resultados mostraron que el Bisfenol A y el Bisfenol S fueron detectados en todos los sujetos, el Bisfenol AF en el 33.3% y BPE solo en dos de ellos. Todas las muestras contenían los parabenos estudiados, destacando el propilparabeno como el más abundante, seguido del etilparabeno, butilparabeno y por último metilparabeno. Para concluir, cabe destacar que el BPA fue el bisfenol más detectado, seguido del BPS. Esto es debido a que la industria en los últimos años sustituye el primero por sus análogos a causa de la alarma generada por los efectos perjudiciales que tiene sobre la salud. Los parabenos fueron detectados en todas las muestras, lo cual puede deberse a que están permitidos como aditivos alimentarios en el caso del metilparabeno (E-218) y etilparabeno (E-214) así como sus sales sódicas, mientras que propilparabeno y butilparabeno (E-216) sólo están permitidos en algunos cosméticos.

[1] P.D. Darbre, Endocrine disruptors and obesity, *Curr. Obes. Rep.* 6 (2017) 18–27. [2] L. Kolatorova, M. Sramkova, J. Vitku, J. Vcelak, O. Lischkova, L. Starka, M. Duskova, Parabens and their relation to obesity, *Physiol. Res.* 67 (2018) S465–S472.

INFLUENCIA DEL ÁMBITO DE PREPARACIÓN EN EL CONTENIDO DE HMF Y FURFURAL EN ALIMENTOS PROCESADOS COMÚNMENTE CONSUMIDOS POR LA POBLACIÓN ESPAÑOLA

L. González-Mulero, C. Delgado-Andrade, F.J. Morales, E. Olombrada, M. Mesías

RESUMEN: En las últimas décadas se han producido cambios en los patrones dietéticos de la población aumentando el consumo de alimentos procesados, especialmente entre los jóvenes, con el auge de la comida "fastfood". Las altas temperaturas utilizadas durante el procesamiento de estos alimentos, junto con la composición inicial del producto, promueven el desarrollo de la Reacción de Maillard, dando lugar a las características organolépticas deseables de los alimentos procesados (ej. color, aroma y sabor), pero también a la formación de compuestos químicos que pueden llegar a ser potencialmente perjudiciales para la salud. Entre ellos se encuentran los compuestos furánicos, como el hidroximetilfurfural (HMF) y el furfural, generados también a partir de la caramelización de los azúcares. Diversos estudios han puesto de manifiesto que la manipulación y el cocinado influyen notablemente en la formación de estos contaminantes, conduciendo a la necesidad de considerar la forma de preparación de los alimentos para conocer el impacto en el contenido final de HMF y furfural y, consecuentemente, poder establecer valores reales de exposición a estos compuestos. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el contenido de HMF y furfural en alimentos procesados comúnmente consumidos por la población española y evaluar la influencia de los lugares de preparación de los mismos sobre los niveles finales de estos contaminantes. Se seleccionaron 11 grupos de alimentos procesados y se clasificaron según la matriz alimentaria principal en alimentos a base de patata (patatas fritas y tortilla de patatas), a base de cereales (torrijas y bizcocho) y mezcla de cereales con carne/pescado/verduras (filete empanado, empanado de jamón y queso, pizza, empanadas, empanadillas, migas y croquetas). Los alimentos fueron adquiridos en tres entornos diferentes (doméstico, catering e industria alimentaria) para evaluar la influencia del lugar de preparación en la formación de los compuestos furánicos. Los platos se pesaron y se procesaron para determinar el contenido de HMF y furfural por HPLC-DAD. Entre los alimentos analizados, destacaron las torrijas y los bizcochos por su mayor contenido en HMF, con niveles entre 0,33-87,06 mg/kg y 0,41-118,37 mg/kg, respectivamente. Aunque con menores valores medios, las empanadillas (0,73-37,73 mg/kg), las empanadas (0,24-22,14 mg/kg) y las pizzas (0,08-16,69 mg/kg) también mostraron gran variabilidad en los niveles de este compuesto. Las concentraciones fueron igualmente variables para el furfural, con rangos entre 0,06-3,24 mg/kg para los bizcochos, 0,06-2,11 mg/kg para las empanadillas, 0,06-1,16 mg/kg para las empanadas y 0,06-1,12 mg/kg para los filetes empanados. El resto de los productos mostraron menores niveles de ambos compuestos, observándose alimentos con valores inferiores al límite de detección (0,3 mg/kg en HMF; 0,2 mg/kg en furfural) en todos los grupos analizados. La variabilidad observada en los niveles de ambos contaminantes demuestra la influencia de la composición de la matriz alimentaria inicial (contenido de precursores) y de las distintas recetas y condiciones de cocinado en el contenido final de HMF y furfural. De forma general, los alimentos del ámbito industrial mostraron menores concentraciones de ambos compuestos comparados con el ámbito doméstico y el de la restauración colectiva, lo que denotaría una falta de control durante el cocinado en estos sectores. El mayor control durante el procesamiento de alimentos industriales podría deberse a las medidas de mitigación implementadas en este sector para reducir la formación de otros contaminantes de procesado como la acrilamida. Los resultados sugieren la necesidad de promover medidas educativas dirigidas a los manipuladores de alimentos con el fin de controlar la formación de HMF y furfural en los ámbitos doméstico y de la restauración colectiva, reduciéndose así el posible riesgo asociado a su exposición.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, DETOXIFICANTE Y ANTIPROLIFERATIVA IN VITRO DE EXTRACTOS VEGETALES PROCEDENTES DE SEMILLAS BRASICÁCEAS

Ana Guzmán, Cristina Mesas, Aida Lozano, Mercedes Peña, Francisco Bermudez, Consolación Melguzo, Jose Prados, Jesus M. Porres, Rosario Martínez

RESUMEN: El cáncer de colon (CRC) y el síndrome metabólico (SM) son enfermedades crónicas no transmisibles responsables de numerosas muertes cada año. Dada su alta prevalencia en nuestra sociedad y los graves efectos que poseen sobre la calidad de vida de los pacientes, es necesario el desarrollo de nuevas estrategias preventivas y terapéuticas. Existe una estrecha relación entre ambas ya que además de poseer factores de riesgo comunes (edad, genética, obesidad, inactividad física, dietas desequilibradas o inflamación), para muchos autores la presencia de un cuadro de SM se puede considerar en sí misma un marcador de riesgo para el desarrollo de varios tipos de cáncer. Así, la relación entre el CCR y SM podría tener su explicación en el desarrollo de obesidad que a su vez se relaciona con el consumo de dietas con alto contenido en grasa, que conduce a procesos de resistencia a la insulina o alteraciones hepáticas. En este sentido, el desarrollo de extractos funcionales de origen vegetal se está convirtiendo en un pilar fundamental para la mejora de la salud de la población. Las semillas de plantas procedentes de la familia Brasicáceas poseen un alto nivel de compuestos bioactivos con actividad antioxidantes y antiproliferativa que podrían ser aplicados en el tratamiento y en la prevención de ambas patologías. En base a todo lo expuesto el objetivo de este trabajo fue desarrollar extractos funcionales derivados de las semillas de Brasicáceas, propiedad de Cellbitech, como una nueva estrategia para el tratamiento y/o prevención del SM y CCR. Para ello, semillas de distintas especies de esta familia (S3701 y S5601), tanto crudas como germinadas, se sometieron a una extracción etanólica compuesta de agua, etanol y HCl (50; 50; 0,25) para concentrar sus moléculas bioactivas. Tras la realización de los distintos extractos se determinó el rendimiento de extracción, y se caracterizó la capacidad antioxidante mediante distintas pruebas como el contenido en polifenoles totales mediante Folin-Ciocalteu, ABTS, inhibición de peroxidación lipídica y capacidad quelante del hierro. Además, el perfil de compuestos bioactivos se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (UPLC). Posteriormente, se determinó la capacidad antioxidante in vitro en la línea celular HT29, así como la capacidad de inducir distintas enzimas detoxificantes (Glutathion-S-transferasa (GST) y Quinona reductasa (QR)), y la capacidad antiproliferativa en células de cáncer de colon T-84. Además, los extractos que mostraron una mayor capacidad antioxidante se sometieron a un proceso de digestión in vitro para poder discriminar entre los compuestos bioactivos potencialmente absorbibles de aquellos que llegan intactos al colon. Los principales resultados mostraron que el mayor rendimiento de extracción se obtuvo a partir de las semillas germinadas. Sin embargo, la concentración de polifenoles totales es significativamente superior en el extracto procedente de la semilla S5601 sin germinar (60,5 µg ácido gálico/ mg extracto). En el caso de la semilla S3701, ambos extractos (procedentes de la semilla cruda y germinada) mostraron una concentración de polifenoles similar. La capacidad de los extractos para captar radicales libres de ABTS y quelar el hierro, fue superior en la semilla S3701, mientras que la mayor capacidad para inhibir la peroxidación lipídica se debió a los extractos procedentes de las semillas germinadas. Con respecto a la capacidad antiproliferativa de los extractos, la semilla S5601 presentó una Ic_{50} de 650 µg/ml, mientras que la germinación de la semilla disminuyó esta capacidad casi a la mitad (Ic_{50} = 335 µg/ml). En el caso de la semilla S3701 no muestra Ic_{50} a concentraciones de hasta 1mg/ml. Por último, la actividad de enzimas detoxificantes como la GST y la QR se incrementa cuando la línea celular HT29 se incubaba con los extractos etanólicos de ambas semillas, llegando a alcanzar su máxima actividad con el extracto etanólico de S3701.

UNA HERRAMIENTA SENCILLA PARA EVALUAR LA INGESTA TOTAL DE POLIFENOL- LES DE LA DIETA

Daniel Hinojosa-Nogueira, Beatriz Navajas-Porras, Sergio Pérez-Burillo, Silvia Pastoriza, José Ángel Rufián-Henares

RESUMEN: Actualmente, los estudios epidemiológicos reconocen la influencia que ejerce la dieta sobre la salud. Patrones alimentarios como la dieta mediterránea o la ingesta de compuestos específicos como polifenoles, se asocian a diferentes efectos beneficiosos sobre la salud. Los polifenoles son un grupo heterogéneo de metabolitos secundarios vegetales con más de 8000 compuestos diferentes agrupados en varias subclases. El hecho de identificar la ingesta de estos compuestos procedente de la dieta está cobrando un mayor interés. Por este motivo, el objetivo de esta comunicación es mostrar esta herramienta desarrollada con el fin de estimar la ingesta de polifenoles totales de una forma intuitiva y fácil de utilizar. La herramienta se divide en seis comidas diferentes para cada una de los 7 días de la semana. Cuenta con valores de polifenoles totales de hasta 302 alimentos y la posibilidad de incorporar valores propios de alimentos o compuestos específicos. Esta herramienta fue validada en 90 participantes de diferentes edades y cuya ingesta total de polifenoles fue de 1790 ± 629 mg polifenoles/día. Estos resultados fueron comparables con los de otros estudios. Todo esto convierte a la herramienta aquí presentada en una buena opción para estimar la ingesta total de polifenoles de la dieta de forma rápida y sencilla. Esta herramienta está disponible como una hoja de cálculo gratuita en inglés y en español para todos los usuarios que quieran utilizarla

EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS VEGETALES MEDIANTE TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN GREEN

Lucía López Salas (1); Isabel Borrás Linares (2,3); Antonio Segura Carretero (2,3) y Jesús Lozano Sánchez (1,3).

1. Departamento de Nutrición y Bromatología, Universidad de Granada, Campus Universitario S/N, 18071 Granada, España; lslucia@correo.ugr.es (L.L.-S.); jesusls@ugr.es (J.L.-S.). 2. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, España; ansegura@ugr.es (A.S.-C.); iborras@ugr.es (I.B.-L.). 3. Centro de Investigación y Desarrollo del Alimento Funcional (CIDAF), Parque Tecnológico de la Salud, Avda. Del Conocimiento S/N, 18016 Granada, España.

RESUMEN: En el mundo actual, la concienciación ambiental es cada vez más palpable y, en este contexto, la economía circular en los procesos de producción y consumo se ha vuelto una herramienta imprescindible. Esta filosofía de reciclaje y reutilización de productos puede extrapolarse y llevarse a cabo en la industria alimentaria, ya que la producción de alimentos está asociada con la generación de grandes cantidades de residuos y subproductos, los cuales son ricos en diversos compuestos de interés como pigmentos y compuestos bioactivos. Los compuestos bioactivos son fitoquímicos que poseen propiedades beneficiosas para la salud humana, más allá del valor nutricional propio de los alimentos. Entre los bioactivos, destacan los compuestos fenólicos por el interés creciente que ha surgido en torno a ellos en los últimos años. La recuperación de estos compuestos de fuentes vegetales se ha convertido en un tema de investigación en desarrollo en la actualidad, ya que podrían utilizarse como ingredientes bioactivos en diferentes sectores como en la cosmética, la industria farmacéutica y la industria alimentaria. De la necesidad de novedosos sistemas de extracción capaces de recuperar compuestos sin dañar sus estructuras junto con la concienciación sobre el respeto hacia el medio ambiente, en los últimos años han surgido numerosos sistemas de extracción que utilizan disolventes Green y GRAS (generalmente reconocidos como seguros). Entre ellos, destaca la extracción con fluidos presurizados (PLE) ya que ha sido ampliamente utilizada para la recuperación de compuestos fenólicos de matrices vegetales, tanto de las partes comestibles como de los subproductos y desechos. Un ejemplo claro de las aplicaciones de estas tecnologías Green son los desarrollos metodológicos llevados a cabo en Granada por el Centro de Investigación y Desarrollo del Alimento Funcional (CIDAF). CIDAF, ubicado en el PTS, ha trabajado en los últimos años en la extracción PLE para obtener compuestos fenólicos bioactivos de subproductos vegetales. Los disolventes de extracción que se utilizan dependen de las aplicaciones, pero en su mayoría consisten en agua y etanol o sus mezclas. Para los análisis de estos extractos fenólicos cuentan con una plataforma analítica de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de cuadrupolo tiempo de vuelo (HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS). A continuación se enumeran algunas de las publicaciones sobre esta temática llevadas a cabo por CIDAF junto con otras entidades, como la Universidad de Granada. Nastić y colaboradores estudiaron la extracción de fitoquímicos de las hojas de morera negra (*Morus nigra* L.) y de los tallos de la cereza dulce (*Prunus avium* L.) [1,2]. Cádiz-Gurrea y colaboradores caracterizaron los extractos PLE de semillas de uva (*Vitis vinífera*) [3]. En el caso de Figueroa y colaboradores, estudiaron varios subproductos de la industria del aguacate: la semilla, la cubierta de la semilla y la cáscara [4,5]. Cea Pavez y colaboradores estudiaron los extractos PLE obtenidos a partir de orujo de aceitunas [6]. Fuentes y colaboradores caracterizaron las semillas del carao (*C. grandis*) [7]. Para concluir, López-Salas y colaboradores estudiaron varios desechos de fuentes vegetales, incluyendo subproductos de la alcachofa y las tortas de los filtros del aceite de oliva [8,9]. Todos los resultados evidenciaron el potencial de estos subproductos como fuentes potenciales de ingredientes bioactivos.

[1] Nastić N, et al. (2018). *J Ind Eng Chem*. 68:282-292. [2] Nastić N, et al. (2020) *Phytochem Anal*. 31(1):119-130. [3] Cádiz-Gurrea MDLL, et al. (2017). *Int J Mol Sci*. 18(2). [4] Figueroa JG, et al. (2018) *Food Res Int*. 105:752-763. [5] Figueroa JG, et al. (2018). *Food Chem*. 245:707-716. [6] Cea-Pavez I, et al. (2019) *Molecules*. 24(17):3108-3115. [7] Fuentes JAM, et al. (2021). *Foods*. 10(2):398. [8] López-Salas L, et al. (2021) *Appl Sci*. 11(9). [9] López-Salas L, et al. (2021) *Foods*. 10(6):1-12.

PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS EN ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Eduardo López-Huertas

RESUMEN: El aceite de oliva virgen (AOV) está compuesto por una fracción grasa que constituye el 97-99% del total y entre un 1-3% de compuestos minoritarios. La caracterización y el estudio de los efectos de estos compuestos minoritarios han recibido mucha atención por parte de la comunidad científica. En cambio en lo que se refiere al estudio de compuestos minoritarios de naturaleza peptídica, los AOV no se han estudiado en profundidad, más allá de la cuantificación de proteínas totales y de aminoácidos en aceites comerciales. Por ello la composición de péptidos de bajo peso molecular del AOV es mayormente desconocida. En nuestro laboratorio planteamos la hipótesis de que el AOV podría poseer péptidos de bajo peso molecular con actividad biológica, concretamente, actividad antihipertensiva. En nuestro laboratorio se obtuvo AOV (var. Picual) sin filtrar y se llevó a cabo una extracción de la fracción proteínica. Se purificó la fracción de bajo peso molecular mediante filtración por gel (columna Superdex Peptide 10/300) con sistema FPLC. Esta fracción se analizó mediante cromatografía líquida MS/MS (nanoLCOrbitrap MS/MS) y secuenciación de novo. Se identificaron numerosas secuencias de péptidos de bajo peso molecular. Se seleccionaron 23 secuencias de péptidos de entre 6-9 aminoácidos y se sintetizaron químicamente para estudiar su actividad inhibidora de enzima convertidora de angiotensina (iECA). Siete péptidos mostraron una actividad iECA notable (IC50) <10 μ M. Se seleccionaron los 4 péptidos más activos para el estudio de sus efectos en ratas genéticamente hipertensas (SHR-spontaneously hypertensive rats). Se investigaron los efectos antihipertensivos de los péptidos puros seleccionados así como los de un extracto de péptidos de bajo peso molecular obtenido del AOV. Los péptidos RDGGYCC y CCGNAVPO, así como el extracto de AOV mostraron una actividad antihipertensiva clara en SHR. En conclusión, el AOV sin filtrar contiene péptidos endógenos de bajo peso molecular con actividad iECA específica y efectos antihipertensivos en SHR.

ALTERACIONES HEPÁTICAS DURANTE EL DESARROLLO DE LA OBESIDAD EN UN MODELO EXPERIMENTAL: APROXIMACIÓN TERAPÉUTICA NUTRICIONAL Y FARMACOLÓGICA

Aída Lozano Melero, Alejandro García Beltrán, Rosario Martínez Martínez, Ana Guzmán Carrasco, Garyfallia Kapravelou, Milagros Galisteo Moya, María López-Jurado, Pilar Aranda Ramírez, Jesús M. Porres.

RESUMEN: El Síndrome Metabólico (SM) es una enfermedad crónica no transmisible cuya incidencia sigue aumentando cada año debido a factores genéticos y sobre todo ambientales. Es una patología multifactorial que incluye un conjunto de alteraciones metabólicas como obesidad central, dislipidemias, resistencia a la insulina, presión arterial elevada y un estado pro-trombótico y proinflamatorio. Entre los factores de riesgo del SM se incluyen la edad, factores genéticos, la obesidad, las dietas energéticamente desequilibradas y la inactividad física. El tratamiento del SM necesita de distintas intervenciones para revertir sus efectos perjudiciales. Entre las principales se encuentran los tratamientos dietéticos y el ejercicio físico, así como el uso de algunos fármacos. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo experimental animal de obesidad inducida por la dieta y estudiar el efecto de un tratamiento dietético mediante restricción del alimento y la administración del fármaco agonista del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1R), exenatida. Para llevar a cabo este trabajo, 32 ratas Sprague Dawley macho fueron divididas en 4 grupos experimentales (n=8): dos grupos control que consumieron una dieta normocalórica durante 21 semanas (CN) o una dieta hipercalórica más fructosa en el agua de bebida (HFHF) durante 21 semanas (CH). Los dos grupos experimentales restantes, se sometieron a una inducción de la obesidad mediante dieta hipercalórica y fructosa en el agua de bebida durante 13 semanas, para desarrollar la obesidad y posteriormente (durante 8 semanas) se aplicaron dos tratamientos distintos: administración de una dieta normocalórica (HN) o administración de dieta normocalórica más la inyección del fármaco exenatida (HNE). Durante el período experimental la ingesta de alimento y el consumo de agua y fructosa fueron controlados diariamente, y el peso de los animales se registró semanalmente. Al final del período experimental los animales se sacrificaron y el hígado fue extraído y dividido en varias porciones para determinar el contenido en grasa y realizar la extracción de ARN total para la determinación de expresión génica mediante RTq-PCR de distintas enzimas implicadas en el metabolismo lipídico. Los principales resultados mostraron el desarrollo de la obesidad en aquellos animales que consumieron la dieta HFHF con respecto a los animales que consumieron la dieta CN. Además las intervenciones administradas a los animales, y especialmente el cambio de dieta conjuntamente con la inyección del fármaco exenatida, promovieron la disminución del peso de los animales en comparación con aquellos que continuaron el consumo de la dieta HFHF. Además, esta intervención también disminuyó drásticamente el contenido de grasa hepática almacenada, incluso por debajo de los valores encontrados en el grupo CN. Después de analizar mediante RTq-PCR la expresión de diferentes genes hepáticos, se observó que el desarrollo de la obesidad durante 21 semanas promovió una disminución en la expresión tanto de diferentes genes implicados en vías lipolíticas (Cpt1a, Cyp11a2 y Cyp7a1) como lipogénicas (Fasn y Hmgcr). En todos los casos el tratamiento con una dieta normocalórica, y más marcadamente la inyección del fármaco exenatida conjuntamente con la intervención nutricional, restauraron los valores de expresión génica de estos transcritos hasta alcanzar valores similares a los encontrados en el grupo de animales que consumían la dieta normocalórica. En conclusión, estos resultados destacan el potencial terapéutico y la eficacia de intervenciones nutricionales y/o farmacológicas frente al desarrollo de la obesidad inducida por la dieta y la corrección de las alteraciones asociadas con el metabolismo lipídico hepático. Este tipo de herramientas pueden resultar de gran utilidad para afrontar patologías metabólicas debido a patrones dietéticos inadecuados.

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN HOJA DE OLIVO TRATADA CON CAMPOS ELÉCTRICOS PULSADOS

María del Carmen Razola-Díaz, Beatriz Martín-García, Robert Sevenich, Oliver Schlüter y Vito Verardo

RESUMEN: La hoja de olivo es uno de los principales subproductos procedentes de la industria del aceite de oliva. Este subproducto es una fuente rica en compuestos fenólicos que han demostrado poseer actividades beneficiosas para la salud, las cuales se deben en parte a sus actividades antioxidantes. Por ello la revalorización de este subproducto sería de gran importancia para la Industria alimentaria. Por este motivo, este estudio se centra en establecer las condiciones óptimas de una tecnología basada en el uso de campos eléctricos pulsados (CEP) como pretratamiento en la hoja de olivo para así obtener un extracto enriquecido en compuestos fenólicos, un objetivo enmarcado en el Proyecto Europeo SHEALTHY (<https://www.shealthy.eu/project/>). Para ello, se ha llevado a cabo un diseño Box-Behnken de 15 experimentos con 3 factores independientes: frecuencia (Hz), tiempo de tratamiento (s) y energía del campo (kv/cm). En cada experimento los compuestos fenólicos fueron extraídos mediante tecnología de ultrasonidos. Las variables respuesta fueron el contenido en compuestos fenólicos totales, y los dos compuestos mayoritarios, hidroxitirosol y oleuropeina, medido mediante HPLC-MS. La validez del diseño experimental fue confirmada mediante ANOVA y las condiciones óptimas fueron establecidas mediante el uso de la metodología de superficie respuesta. Las condiciones óptimas mediante CEP fueron 0.6 kv/cm a 110 Hz durante 11 segundos para la obtención del máximo contenido en compuestos fenólicos totales, el cual fue de 24 mg/g de hoja seca. Los datos finales confirmaron que el tratamiento con CEP a dichas condiciones óptimas ha demostrado ser un pretratamiento efectivo en la mejora de la extracción de compuestos fenólicos en hoja de olivo, probablemente debido al aumento de la permeabilidad de la membrana celular.

COMPARACIÓN DEL NIVEL DE CALIDAD DE CUATRO DIETAS ESTANDARIZADAS PARA ROEDORES

Jesús Martín Zuñiga (1), Avilene Rodríguez Lara (2), Jesús Rodríguez Huertas (2)

1. Servicio de Producción y Experimentación Animal. CIC/CIBM/PTS. Universidad de Granada, Granada, España 2. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. CIBM, Universidad de Granada, Parque Tecnológico de la Salud, Granada, España

RESUMEN: clave en el crecimiento, desarrollo y reproducción de las diferentes especies y/o cepas utilizadas como modelos experimentales. La calidad de las dietas en los ensayos de alimentación de roedores es crucial y puede condicionar resultados esperados en determinados estudios. Se hace un análisis de cuatro tipos de dietas para roedores de fabricantes comerciales, de origen desconocido –ciegas-, dos de gestación-producción (A vs D) y dos de mantenimiento (B vs C). Se plantea con un doble enfoque integrador con 4 objetivos de estudio: (i) evaluar la composición nutricional básica realizando un análisis proximal, comparando con los datos técnicos del fabricante; (ii) determinación de contaminación biótica pre-consumo y en período de alimentación en condiciones SPF y (iii) crecimiento comparado a medio plazo, (IV) biodisponibilidad. El estudio fue ciego desconociendo el equipo investigador, en todo momento el origen de las 4 dietas de origen comercial. Para ello se realizó un análisis proximal por el método Kjeldahl para el análisis de proteínas y el método Soxhlet para análisis de grasas. Contaminación biótica (análisis bacteriológico estándar) antes de su consumo y durante el período de alimentación en condiciones ambientales SPF (3 meses). Crecimiento comparado en ratón CD1(ICR) Outbred, de ambos sexos: $\sigma\sigma$ (n=31) y ♀♀ (n=38) por un período de 3 meses. Para medir la biodisponibilidad y análisis comparado de g^r de aprovechamiento del N, se usó jaulas metabólicas, evaluando consumo y peso durante 10 días (3 de adaptación y 7 de cuantificación) de ingesta sólida, cambios en el peso y recolección de heces y orina para la evaluación de nitrógeno absorbido en cada una de las diferentes dietas. Los resultados muestran que la composición nutricional de las dietas coincide con los estándares y los criterios de formulación utilizados para animales de laboratorio cumpliendo con las necesidades tróficas de los roedores con base al análisis proximal, mostrando porcentajes equilibrados de componentes. Los resultados del consumo de las dietas de gestación mostraron una mayor tendencia de consumo de la Dieta A frente a la Dieta D, sin diferencia estadísticamente significativa, respecto a la comparativa de las dietas de mantenimiento B vs C, la tendencia es muy similar, no muestra significancia estadística, los Índices Biológicos apuntan a un mayor aprovechamiento de la proteína y nutrientes complementarios que aportan el N; Observamos que los animales crecieron con rapidez y con óptima condición corporal (sin sobrepeso y sin carencias nutricionales).

DETERMINACIÓN DE DISRUPTORES QUÍMICOS OBESÓGENOS EN SALIVA EN UNA POBLACIÓN ESCOLAR MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA

Inmaculada Moscoso-Ruiz, Yolanda Gálvez-Ontiveros, Vega Almazán, Eduardo Ortega, Mercedes Tovar, Helga del Castillo, Lourdes Rodrigo, Patricia González, Alberto Zafra-Gómez, María del Carmen Gómez-Regalado

RESUMEN: Los disruptores endocrinos químicos son unos contaminantes exógenos que mimetizan la actividad hormonal y promueven la acumulación lipídica, entre otros efectos. Existen multitud de ellos y coexisten con humanos y animales puesto que se encuentran en el medioambiente debido al uso masivo de la industrialización, y pueden penetrar en el cuerpo vía oral, dérmica o inhalatoria. Los parabenos y bisfenoles son dos grupos de disruptores ampliamente conocidos cuya principal vía de exposición es la dieta. Existen estudios que demuestran que provocan efectos adversos como disruptores endocrinos, siendo la infancia el grupo más vulnerable, ya que es una etapa crucial para el desarrollo. El objetivo de este trabajo fue determinar parabenos y bisfenoles en una muestra de saliva de población escolar de entre 6 y 12 años en la provincia de Granada. Los materiales y métodos fueron los siguientes: se optimizó un método de extracción para estos compuestos en saliva humana mediante ultrasonido y posteriormente se separó y detectó con cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem. Se reclutaron 74 muestras de saliva de niños de entre 6 y 12 años de Granada. La muestra se recogió en un bote de cristal y en ayunas para evitar contaminación externa, como comida o pasta de dientes. En cuanto a los resultados, de las 74 salivas analizadas, en el 100 % de las muestras se detectó etilparabeno y en un 94 % metilparabeno. Propil y butilparabeno se detectaron en el 35 y 25 % de las salivas respectivamente. En cuanto a los bisfenoles, el BPA se detectó en el 38 % de las muestras, mientras que el BPAF fue el bisfenol mayormente detectado en un 94%, seguido del bisfenol M con un 53 %. Como conclusión, podemos decir que la evidencia de que estamos expuestos a disruptores endocrinos químicos la encontramos en los resultados de nuestro estudio. En el caso de los parabenos es esperable encontrarlos, puesto que tanto metil y etilparabeno como sus sales están regulados legalmente como aditivos en los alimentos, y butil y propil en cosméticos. En el caso de los bisfenoles, el BPA empieza a ser reemplazado en la industria debido a las recientes restricciones de este, siendo sus análogos los más utilizados para los envases plásticos y por ende los más detectados en esta matriz biológica.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA CARNE DEL CERDO IBÉRICO EN CONDICIONES DE ESTRÉS POR CALOR

Zaira Pardo, Ignacio Fernández-Figares, Rosa Nieto, Isabel Seiquer

RESUMEN: El cambio climático es uno de los problemas a los que se enfrenta la sociedad actual, causando un incremento en la frecuencia de las olas de calor y en la temperatura del planeta. El calentamiento global tiene efectos muy negativos en la ganadería, especialmente en el ganado porcino, ya que los cerdos carecen de glándulas sudoríparas funcionales y su capacidad para disipar calor se ve muy limitada. Además de afectar a la productividad, la exposición al calor puede verse reflejada en un deterioro de la calidad de la carne, en respuesta a un incremento de las reacciones oxidativas y de la peroxidación lipídica. Por ello y porque la carne de cerdo es una de las más consumidas por la población, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la exposición de cerdos Ibéricos a altas temperaturas en parámetros indicadores de estrés oxidativo de la carne. Se utilizaron 24 cerdos Ibéricos alimentados con una dieta control, que se distribuyeron en tres grupos (n=8) y se sometieron durante cuatro semanas a las siguientes condiciones: termoneutralidad (20°C) con alimentación ad libitum (TN), estrés por calor (30°C) con alimentación ad libitum (EC) y termoneutralidad con alimentación pareada con el grupo de EC (TN-ap). Tras el sacrificio de los animales se recogieron muestras de dos músculos: longissimus lumborum y gluteus medius para determinar en ellos parámetros relacionados con el estatus antioxidante. Dada la estrecha relación que existe entre el deterioro de la carne y la composición lipídica, se analizó también el perfil de la grasa intramuscular. Los resultados muestran como el nivel de malondialdehído, el biomarcador más representativo de la peroxidación lipídica, no se afectó por el estrés por calor, tal como se había observado en razas convencionales (Ma et al., 2015). En el caso de las propiedades antioxidantes (analizadas mediante los ensayos ABTS, DPPH y FRAP), observamos un incremento en los niveles de DPPH en los animales sometidos a elevadas temperaturas en comparación con los grupos de TN y TN-pf, así como valores más elevados de estos marcadores en el músculo gluteus medius en comparación con el longissimus lumborum. Por otro lado, además de la actividad antioxidante, la primera línea de defensa frente al estrés oxidativo son las enzimas antioxidantes, especialmente la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) (Echeregay y col., 2020). En la carne de los animales sometidos a estrés por calor se observó una estimulación de la actividad de ambas enzimas, contrario a lo descrito en razas convencionales (Yang et al., 2014; Shi et al., 2016). Respecto a la composición en ácidos grasos, encontramos diferencias marcadas entre los músculos, como una elevada cantidad de PUFA y de la relación PUFA/SFA en el gluteus en comparación con el longissimus, probablemente debido a la diferente naturaleza de sus fibras, de tipo oxidativo o glucolítico (Gonzalez-Prendes et al., 2019). El estrés por calor tuvo un ligero efecto en la composición de los ácidos grasos y solo se observó un leve descenso en los n3 y en los valores PUFA/SFA al comparar TN-pf y EC. La estabilidad de la composición de la grasa observada en el cerdo Ibérico puede considerarse un factor positivo para evitar el desarrollo de la peroxidación lipídica, muy influenciada por el grado de saturación de la grasa intramuscular y la elevada proporción de PUFA. Con este estudio hemos mostrado que una prolongada exposición a elevadas temperaturas no compromete la calidad de la carne en el cerdo Ibérico, al contrario que lo mostrado en otras razas porcinas, encontrando incluso una respuesta positiva en algunos de los marcadores del estatus oxidativo, como pueden ser el MDA y la capacidad antioxidante.

IMPLICACIONES DE LA FAMILIA DE PROTEÍNAS ALDEHÍDO DESHIDROGENASA (ALDH) DE SEMILLA DE OLIVO EN ALIMENTACIÓN FUNCIONAL Y SALUD

Salvador Priego Poyato

RESUMEN: La generación de especies de oxígeno reactivas (ROS) es un proceso natural que se produce de forma basal como consecuencia del metabolismo tanto en animales como en plantas. Dichas especies participan en numerosos procesos fisiológicos regulados por señalización redox. Sin embargo, el aumento de los niveles intracelulares de estos compuestos, incluyendo peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y radical superóxido, como consecuencia de procesos de estreses abióticos y bióticos, produce una acumulación excesiva de aldehídos en las células. Todos ellos pueden llegar a producir la oxidación de diferentes componentes celulares, como lípidos y proteínas, alterando su función. Entre los componentes celulares más susceptibles a la oxidación por ROS se encuentran los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), cuya oxidación genera una gran diversidad de especies químicas altamente reactivas, que pueden degradarse aún más de forma enzimática o no enzimática originando otros compuestos como las especies de carbonilo reactivas (RCS). Dichas RCS son capaces de reaccionar de forma selectiva con proteínas, produciendo frecuentemente una pérdida de función a través de reacciones de lipoxidación. La familia de proteínas aldehído deshidrogenasa (ALDH) se encuentra en casi todos los organismos, y en particular las plantas contienen catorce familias con una gran diversidad funcional, con implicaciones en metabolismo, señalización, desarrollo, etc. Son enzimas dependientes de NAD(P)⁺ que metabolizan una amplia gama de moléculas de aldehído alifático y aromático, endógenas y exógenas, por lo que se encargan de regular los niveles de RCS en la célula mediante su detoxificación. Los tejidos ricos en lípidos, como los de semillas y frutos, especialmente en especies de plantas oleaginosas como el olivo, son particularmente propensos a sufrir peroxidaciones lipídicas en situaciones de estrés. Muchos de estos tejidos se utilizan en la preparación de aceites vegetales y alimentos, por lo que la oxidación de lípidos puede producir cambios en las propiedades organolépticas, el aspecto, e incluso el valor nutricional y nutracéutico de estos alimentos. Por lo tanto, la identificación y caracterización de los diferentes miembros de la familia ALDH en olivo resulta de gran interés por la importancia económica de este cultivo y la repercusión que esta familia tiene en la regulación de las propiedades de aceites procedentes de su fruto y semilla. En este estudio se ha realizado un exhaustivo análisis *in silico* de las diferentes familias de ALDH identificadas en semillas de olivo a nivel de i) identificación de secuencias, ii) relación de estructura y función de las diferentes familias, y iii) potenciales propiedades alergénicas. Los resultados obtenidos tienen gran aplicabilidad en biotecnología y en programas de mejora vegetal, además de permitir la identificación de variedades de olivo y obtención de aceites con propiedades organolépticas, nutricionales y nutracéuticas diferenciales y mejoradas.

EVALUACIÓN DE LA ABIOACCESIBILIDAD DE COMPUESTOS ANTIINFLAMATORIOS DE LA HOJA DE OLIVO MICROENCAPSULADOS EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN IN VITRO ESTÁTICA

Rosa Quirantes Piné, Carmen María Duque Soto, Asunción López Bascón, Jesús Lozano Sánchez, Antonio Segura Carretero, Isabel Borrás Linares

RESUMEN: El proyecto INTESOLIVE, financiado con las Ayudas a proyectos de I+D+i de entidades privadas calificadas como agentes del sistema andaluz del conocimiento, persigue fomentar la economía circular en el sector del olivar al potenciar el aprovechamiento integral de la hoja de olivo para el desarrollo de un nutracéutico destinado a pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales a través de tecnologías de microencapsulación con spray dryer, para por un lado, mejorar la resistencia a la digestión de los compuestos bioactivos presentes en esta matriz y por otro, favorecer su liberación en colon, lugar donde ejercen su acción antiinflamatoria. En el marco de este proyecto se han microencapsulado extractos comerciales de hoja de olivo enriquecidos en oleuropeína, hidroxitirosol y ácido oleanólico empleando inulina como agente encapsulante y se ha evaluado la influencia de las condiciones digestivas sobre la bioaccesibilidad de los principales compuestos bioactivos del extracto microencapsulado sometiendo para ello al protocolo de digestión in vitro INFOGEST y analizando cualitativa y cuantitativamente las fracciones bioaccesible y residual tomadas al finalizar la fase gástrica así como a 4 puntos de tiempo representativos (30, 60, 90 y 120 minutos) de la fase intestinal mediante HPLC-ESI-TOF-MS. Los datos de bioaccesibilidad de los distintos compuestos bioactivos mostraron que un porcentaje de estos compuestos se liberaban de las micropartículas antes de alcanzar el colon y por tanto, eran susceptibles de absorberse o bien degradarse en este segmento simulado del tracto digestivo. Por su parte, los datos de recuperación en las fracciones residuales indicaron que la mayoría de los compuestos se mantienen encapsulados en proporciones variables y por lo tanto, son resistentes a la digestión gástrica e intestinal alcanzando el colon, lugar diana donde se pretende su liberación. Centrando la atención en los compuestos bioactivos de interés, la oleuropeína mantuvo una bioaccesibilidad constante a lo largo de todo el proceso digestivo, lo que indica que si bien se liberaba una parte importante de las micropartículas en la fase gástrica, el proceso de digestión no aumentó de forma paulatina esta liberación ni produjo una degradación apreciable de este compuesto, por lo que probablemente pase a colon una cantidad importante de la inicialmente formulada en el extracto microencapsulado. En cuanto al contenido en oleuropeína de las fracciones residuales, si bien se apreció una mayor recuperación en la fase gástrica que posteriormente disminuyó ligeramente en la fase intestinal, se mantuvo constante hasta finalizar la digestión intestinal llegando encapsulado a colon un 11% del contenido inicial. El hidroxitirosol por su parte, presentó un valor de bioaccesibilidad anormalmente alto en la fase gástrica, probablemente debido a degradaciones de otros compuestos distintos, en concreto derivados secoiridoides, que contienen hidroxitirosol en su estructura, y que al someterse a las condiciones de pH de la fase gástrica liberan cantidades importantes de este compuesto. Sin embargo, al comienzo de la fase intestinal este valor descendió acusadamente y se mantuvo estable a lo largo de toda esta fase, sin sufrir posteriores degradaciones, por lo que también una parte importante bioaccesible alcanza el colon. En cuanto a la recuperación en las fracciones residuales, en la fase intestinal se produjo una ligera disminución de su contenido manteniéndose posteriormente estable en torno al 20% a lo largo de toda esta fase, por lo que esta proporción se mantendría encapsulada hasta alcanzar el colon. Respecto a los terpenos, la bioaccesibilidad de los ácidos oleanólico y maslínico fue muy baja, sin embargo, en las fracciones residuales además de encontrarse valores superiores para estos dos compuestos, también pudieron cuantificarse otros isómeros y derivados.

ASOCIACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN POSTNATAL A BISFENOLES Y FTALATOS Y EL NEURODESARROLLO INFANTIL

Viviana Ramírez, Miguel A Baca, Pablo José González-Domenech, Lourdes Rodrigo, Ana Rivas

RESUMEN: Los disruptores endocrinos (DEs) son compuestos de origen exógeno, naturales o de síntesis química, capaces de alterar el normal funcionamiento del sistema endocrino. El bisfenol A y sus análogos y ftalatos son disruptores químicos que se emplean principalmente como plastificadores en la producción de recipientes y envoltorios en contacto con los alimentos, y en la elaboración de productos de cuidado personal. Dichos compuestos son capaces de migrar desde el material plástico al alimento, siendo la alimentación la principal vía de exposición para el hombre. La evidencia epidemiológica existente resalta los efectos neurotóxicos de los bisfenoles y ftalatos a nivel prenatal, sin embargo, los estudios a nivel postnatal son escasos. El objetivo del presente trabajo fue revisar los estudios que relacionan la exposición postnatal a estos compuestos con el riesgo de trastornos del neurodesarrollo y alteraciones del comportamiento en niños y adolescentes. Se ha realizado una revisión sistemática de los artículos publicados entre 2000 y 2021 en las bases de datos de PubMed, Medline y Web of Science, utilizando los siguientes términos de búsqueda: ("postnatal" OR "childhood") AND ("BPA" OR "phthalate exposure") AND ("neurodevelopment" OR "developmental delay" OR "behaviour"). Resultados: La exposición infantil al BPA se ha relacionado más frecuentemente con alteraciones conductuales dependiente del sexo, sobre todo en varones. En los estudios revisados se demuestra una asociación de los niveles urinarios de BPA con problemas en la conducta, cognitivos y peor memoria de trabajo en varones. Asimismo, dos estudios encontraron un mayor riesgo de sufrir trastornos por déficit de atención e hiperactividad (TDAH). Respecto a los ftalatos, los niveles urinarios se relacionaron con efectos adversos en el desarrollo cognitivo, motor y conductual en niños entre 3 y 14 años. Los ftalatos han mostrado ejercer sus efectos según el sexo debido a su actividad antiandrogénica; no obstante, la mayoría de los estudios no evaluaron o reportaron asociaciones en función del sexo. Solamente dos estudios prospectivos demostraron el papel del dimorfismo sexual en la función motora y comportamiento dependiendo del tipo de metabolito y la edad de determinación de la exposición. En conclusión, el trabajo muestra que la exposición postnatal a los bisfenoles y ftalatos a través de la dieta se ha asociado con alteraciones en el neurodesarrollo y en el comportamiento. Existe cada vez más evidencia científica sobre la influencia de estos compuestos en el desarrollo de TDAH, especialmente en varones. Por ello, los hallazgos de este trabajo servirán de base para el desarrollo de pruebas que analicen el efecto de la exposición postnatal en el neurodesarrollo, así como evaluar este efecto estratificado por sexo.

CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL Y METABOLÓMICA DE 12 ESPECIES DE FLORES COMESTIBLES

Lorenzo Rivas García (1,2,3), Alfonso Salinas Castillo (4), Ana C. Abreu (5), Ignacio Fernández (5), José Luis Quiles Morales (1,6), Pilar Aranda Ramírez (1,2), Juan Llopis González (1,2), Cristina Sánchez González (1,2)

1. Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia. Centro de Investigación Biomédica. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix". Universidad de Granada. Avda. del Conocimiento S / N. 18100 Armilla. Granada. España 2. Centro Mixto Deporte y Salud. Universidad de Granada, C / . Menéndez Pelayo 32. 18016 Armilla, Granada, España. 3. Centro Regional de Investigaciones Biomédicas (CRIB), Universidad de Castilla-La Mancha, C / . Almansa 14. 02008 Albacete, España. 4. Departamento de Química Analítica, Universidad de Granada, Granada, 18071, España. 5. Departamento de Química y Física, Centro de Investigación CIAIMBITAL, Universidad de Almería, Ctra. Sacramento, s/n, 04120 Almería, España. 6. Grupo de Investigación en Alimentos, Bioquímica Nutricional y Salud, Universidad Europea del Atlántico, Isabel Torres 21, 39011 Santander, España

RESUMEN: Históricamente la humanidad ha asociado las virtudes de ciertos alimentos con la salud, especialmente en la prevención de la aparición de ciertas patologías; pero es en los años 80 cuando se refuerza la investigación sobre los efectos beneficiosos de algunos componentes, a menudo no nutritivos, sobre el organismo humano y este conocimiento se traslada a la industria alimentaria para el desarrollo de alimentos funcionales. Por tanto, la búsqueda de nuevas matrices sobre las que desarrollar nuevos alimentos o bien usar estas como componentes de alimentos funcionales es uno de los objetivos de la industria alimentaria [1]. Las flores comestibles emergen como un "mundo inexplorado" con alto valor añadido en la industria alimentaria por sus posibles implicaciones biológicas[2]. En el presente trabajo se ha evaluado el perfil nutricional de 12 especies de flores comestibles (*Centaurea cyanus*, *Matthiola incana*, *Lobularia maritima*, *Antirrhinum majus*, *Coriandrum sativum*, *Pelargonium x zonale*, *Achillea millefolium*, *Viola cornuta*, *Viola wittrockiana*, *Rosa x hybrida*, *Rosa spp.*, *Tagetes erecta*, *Tulbaghia violacea* y *Verbena hybrida*), para ello se han determinado los macronutrientes y micronutrientes minerales (tanto minerales mayoritarios como trazas y ultratrazas) presentes en estas especies vegetales. Estos datos nos muestran en general a las flores comestibles como un alimento con alto contenido en agua, bajo en grasas y con un contenido superior en carbohidratos y proteínas que otras especies vegetales. Además, algunas de estas especies poseen cantidades importantes de algunos minerales, por ejemplo, *Lobularia maritima* es rica en manganeso y potasio, elementos con un papel relevante en el funcionamiento de enzimas antioxidantes y otros procesos biológicos. También, se ha evaluado el perfil de metabolitos mediante resonancia magnética nuclear (NMR). Los valores obtenidos mediante NMR han permitido clasificar las flores en función de los parámetros PC1/PC3 en 4 grupos que muestran semejanzas en su perfil metabolómico. Además, se ha cuantificado los parámetros de color mediante sensores colorimétricos en los pétalos de las especies analizadas y se ha establecido una relación causal entre la distribución de acuerdo con su perfil metabolómico (score PC1/PC3) y los colores de las flores. Por tanto, estos resultados sugieren que el perfil metabolómico de los pétalos de las flores está relacionado con su color, lo que permite estimar la composición fitoquímica de las flores a partir de su estudio. En conclusión, los resultados obtenidos proponen a las flores como una fuente de nutrientes, especialmente micronutrientes, y sugieren que es posible relacionar el contenido en metabolitos con el color de las flores, lo que permitirá el screening de moléculas de una forma más fácil, económica y accesible a través de la caracterización del color de sus pétalos, y basar el consumo y aplicaciones biomédicas de las flores y extractos en base a dichas características.

[1] Topolska K, Florkiewicz A, Filipiak-Florkiewicz A. Functional Food—Consumer Motivations and Expectations. *Int J Environ Res Public Health* 2021; 18: 5327. [2] Rivas-García L, Navarro-Hortal MD, Romero-Márquez JM, Forbes-Hernández TY, Varela-López A, Llopis J et al. Edible flowers as a health promoter: An evidence-based review. *Trends Food Sci Technol* 2020. doi:10.1016/j.tifs.2020.12.007.

IDENTIFICADO EL DOMINIO FUNCIONAL DE LAS PROTEÍNAS CONGLUTINAS β DE ALTRAMUZ (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS*) IMPLICADO EN SUS PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS

Elena Lima-Cabello, Esther Rodriguez de Haro, Sonia Morales-Santana, Jose C. Jimenez-Lopez

RESUMEN: El altramuz azul (*Lupinus angustifolius*), una de las cuatro especies del grupo denominado “altramuz dulce” (*L. angustifolius*, *L. albus*, *L. luteus* y *L. mutabilis*), constituye una fuente sostenible, económicamente accesible y alternativa de proteína para su uso alimentario, a las que actualmente se utilizan como la soja, o la proteína de origen animal. El contenido en proteína de sus semillas está entre un 35 - 55 % de su peso total. Entre ellas, las más abundantes son las proteínas conglutinas β que pertenecen a la familia vicilina (7S-globulinas). Estas proteínas exhiben propiedades y múltiples beneficios recientemente descubiertos [1]. Entre los beneficios para la salud de estas proteínas es altamente destacable su actividad antioxidante y propiedades antiinflamatorias, mediante (a) la regulación de la vía de señalización de la insulina, (b) la mejora de la sensibilidad a la insulina, (c) la regulación de la absorción de glucosa, (d) la capacidad para equilibrar la homeostasis oxidativa, las vías metabólicas y de señalización metabólicas y oxidativas (e) al mismo tiempo que reduce la producción de especies reactivas de oxígeno aumentando la capacidad de defensa oxidativa celular. Dichas funciones pueden ser el resultado de características estructurales específicas y únicas que posee las proteínas conglutinas β , en comparación con la mayoría de las diferentes familias de leguminosas. Estas proteínas están constituidas por dos dominios, uno globular y un brazo móvil. El globular lo forman dos barriles β conservados de láminas β anti-paralelas. El brazo N-terminal móvil es una característica distintiva con respecto a otras vicilinas en la mayoría de las especies de leguminosas, y está constituido por 8-10 α -hélices. Las siete isoformas proteicas funcionales que constituyen la familia conglutinas β ($\beta 1$ a $\beta 7$) poseen diferencias estructurales considerables, localizadas particularmente en los elementos 2-D del brazo móvil, afectando tanto al número, la longitud, la composición de aminoácidos y el polimorfismo de sus secuencias. En este trabajo hemos estudiado dos de estas isoformas funcionales, $\beta 5$ y $\beta 7$, desde el punto de vista estructural con herramientas bioinformáticas y nutracéutico a nivel experimental. Para ello, dichas proteínas se han sobre-expresado en sistemas heterólogos de manera estable semejantes a las nativas en estructura y función, y se han purificado mediante cromatografía de afinidad, tanto las formas normales como las formas truncadas de $\beta 5$ y $\beta 7$, las cuales carecen del dominio N-terminal o brazo móvil. Dichas proteínas, normal y truncada, se han utilizado en cultivos *in vitro* para evaluar sus propiedades nutracéuticas moleculares a nivel anti-inflamatorio y anti-diabético, identificándose con ello el dominio funcional de $\beta 5$ y $\beta 7$ implicado en dichas funciones. Los resultados obtenidos de este estudio son muy prometedores, en el cual, dichas proteínas conglutinas β de altramuz azul son una nueva fuente de proteínas nutracéuticas con beneficios para la salud, lo que las convierte en excelentes candidatos como alimentos funcionales.

[1] Jimenez-Lopez JC. Narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius* L.) β -conglutin: A multifunctional family of proteins with roles in plant defence, human health benefits, and potential uses as functional food. LEGUME SCIENCE. 2020; e33. Doi: 10.1002/leg3.33

Este estudio ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad a través del Proyecto ref.: RYC-2014-16536 (programa de investigación Ramón y Cajal) a JCJ-L; y el Ministerio de Salud y familia de la Junta de Andalucía, financiación para I+D+i investigación en biomedicina en Andalucía, proyecto ref.: PI-0450-2019.

UN EXTRACTO DE HOJA DE OLIVO ENRIQUECIDO EN OLEUROPEINA REDUCE LAS ALTERACIONES FUNCIONALES CAUSADAS POR LA AGREGACIÓN DE PROTEÍNAS TAU EN UN MODELO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER EN CAENORHABDITIS ELEGANS

Romero-Márquez, JM; Navarro-Hortal, MD; Jiménez-Trigo, V; Muñoz-Ollero, P; Quiles JL.

RESUMEN: La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo cuya patogenia se caracteriza por, entre otros elementos, la presencia a nivel cerebral de formas altamente fosforiladas y mal plegadas de la proteína tau asociada a microtúbulos, que se acumulan como ovillos neurofibrilares. Cada vez más evidencias avalan los beneficios del uso de subproductos del olivar en la prevención de numerosas enfermedades. La composición química de muchos de estos subproductos los convierte en interesantes recursos de cara a su explotación con fines biomédicos. En particular, las hojas de olivo (*Olea europaea*) son una fuente muy importante de oleuropeína y de otros compuestos bioactivos con potentes beneficios para la salud. Dada la composición de las hojas del olivo y la literatura científica relacionada con la enfermedad, el presente estudio fue diseñado para investigar el efecto de un extracto de hoja de olivo enriquecido en oleuropeína al 40% en un modelo de tauopatía humana en el modelo experimental *Caenorhabditis elegans*. Para llevarlo a cabo, se utilizó la cepa transgénica BR5706, la cual expresa de forma constitutiva diversas mutaciones de tau humanas que conducen a una acumulación progresiva de daño estructural en las neuronas motoras GABAérgicas, desarrollando un fenotipo de proteotoxicidad significativo medible a través de las alteraciones del comportamiento locomotor en el primer día de la fase adulta. Previo a ensayar su potencial uso terapéutico, se analizó la toxicidad del compuesto exponiendo a los nematodos de la cepa de salvaje N2 a concentraciones crecientes del extracto (0-1.000 µg/mL), no observándose ningún tipo de efecto negativo agudo. Posteriormente, los nematodos de las cepas BR5706 y N2 (control negativo) se incubaron hasta el día uno de fase adulta en medios de cultivo que presentaban o no 100 µg/mL del extracto de hoja de olivo. Seguidamente, los nematodos fueron situados en un medio líquido evaluándose la velocidad de nado así como distintos parámetros de morfología y movilidad corporal. Los resultados mostraron que los nematodos tratados con el extracto rico en oleuropeína presentaron mayor velocidad de nado y mayor grado de movilidad en comparación con los nematodos no tratados. Para analizar el mecanismo de acción del extracto, se trató a los nematodos con ARN interferente para los factores de transcripción SKN-1/Nrf-2 y Daf-16/FOXO, observándose en este caso que el efecto beneficioso de la oleuropeína, en cuanto a los parámetros funcionales de movilidad, desaparecía. Estos resultados sugieren que el extracto de hoja de olivo enriquecido en oleuropeína previene las alteraciones neuromotoras derivadas de la toxicidad por tau en el modelo experimental *C. elegans*, lo cual podría estar mediado, al menos en parte, por su efecto sobre las vías de señalización SKN-1/Nrf-2 y Daf-16/FOXO.

FOMENTO DE LA EXPLOTACIÓN DE HOJA DE OLIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE NUTRACÉUTICOS CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA INTESTINAL (INTESOLIVE)

Rosa Quirantes Piné, Asunción López Bascón, Francisco Javier Leyva Jiménez, Jesús Lozano Sánchez, Andrea Justicia Rueda, Raquel del Pino García, Rafael Biedma Ortiz, Antonio Segura Carretero e Isabel Borrás Linares

RESUMEN: El principal objetivo del presente proyecto es potenciar la economía circular y bioeconomía en el sector del olivar mediante el aprovechamiento integral de un subproducto del olivo, como es la hoja, de forma indirecta para la producción de nutraceuticos con acción protectora frente a inflamación intestinal. Este objetivo se logrará mediante la microencapsulación de extractos comerciales de esta matriz con el fin de proteger los compuestos bioactivos con demostrada actividad antiinflamatoria frente a la digestión, de forma que alcancen intactos el colon, lugar donde ejercen su acción. La actividad antiinflamatoria intestinal de los extractos microencapsulados se evaluará mediante modelos animales junto con su toxicidad, interacción de los compuestos bioactivos liberados con la microbiota intestinal así como la metabolización de estos compuestos bioactivos en el tracto gastrointestinal. Finalmente, se escalará a producción piloto aquella formulación que presente una mayor bioactividad para producir un pequeño lote de nutraceuticos que contengan el extracto microencapsulado seleccionado para un futuro ensayo preclínico en humanos. Con la consecución de este objetivo fundamental se podrán conseguir otra serie de objetivos técnicos específicos que se detallan a continuación: i) Optimización, haciendo uso de técnicas de diseño experimental, de metodologías de microencapsulación mediante spray-drying que aseguren la protección y liberación controlada de los compuestos de interés de la hoja de olivo en colon empleando distintos agentes encapsulantes y parámetros de atomización. ii) Evaluación de la resistencia, estabilidad y liberación controlada de los extractos microencapsulados mediante digestiones in vitro en tres fases, oral, gástrica e intestinal, analizando la liberación de los compuestos bioactivos microencapsulados así como los metabolitos generados en cada zona del tracto digestivo simulado. iii) Evaluación de la actividad inflamatoria intestinal de los extractos microencapsulados en un modelo murino de colitis experimental usando ratones C57BL analizando el índice de actividad de la enfermedad (IAE), realizando un estudio histológico del colon y determinaciones bioquímicas de expresión de distintos marcadores relacionados con la respuesta inmunitaria mediante RT-PCR así como un análisis de la microbiota. iv) Estudio de la metabolización en el tracto gastrointestinal de los compuestos bioactivos de la formulación microencapsulada de hoja de olivo en un modelo animal murino. v) Desarrollo de un nutraceutico a escala piloto mediante el escalado de la microencapsulación por spray drying del extracto de mayor actividad antiinflamatoria intestinal y su formulación galénica para la fabricación de un lote que será sometido a los controles de calidad recomendados por la Real Farmacopea Española y que en un futuro podrá emplearse para realizar un ensayo preclínico en humanos que demuestre su actividad protectora frente a la inflamación intestinal

PÓSTERS

1. ¿El entrenamiento de fuerza afecta en la saturación de oxígeno muscular?
2. Autopercepción de la calidad de vida en salud de personas mayores institucionalizadas
3. Relación entre el fitness funcional y la calidad de vida asociada a la salud del adulto mayor con síndrome metabólico
4. Influencia de los hábitos alimentarios y la adherencia a la Dieta Mediterránea en la condición física durante el embarazo. El proyecto GESTAFIT
5. La hipótesis de la estimulación cognitiva podría estar incompleta: una revisión sistemática y meta-análisis
6. Estudio de recuperación de jugadores de fútbol tras reconstrucción del ligamento cruzado anterior entre autoinjertos de tendón cuadriceps con pastilla y tendón del isquiotibial
7. Importancia de la actividad física en la salud ósea de niños con enfermedad celíaca
8. Efecto de la hora del día del ejercicio sobre los factores de riesgo cardiovascular: una revisión sistemática y meta-análisis
9. Una mejor condición física autoreportada se asocia a mayor bienestar emocional y menor angustia emocional durante el embarazo. El proyecto GESTAFIT
10. Asociación de los trastornos respiratorios del sueño con marcadores cardiometabólicos e inflamatorios en niños con sobrepeso/obesidad

¿EL ENTRENAMIENTO DE FUERZA AFECTA EN LA SATURACIÓN DE OXÍGENO MUSCULAR?

Claudia Miranda-Fuentes, Luis J. Chiroso-Rios, Isabel M. Guisado-Requena, Felipe García-Pinillos, Indya del-Cuerpo, Antonio López-Fuenzalida, Paulina Ibacache-Saavedra and Daniel Jerez-Mayorga.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue describir y comparar la respuesta aguda de la oximetría muscular (SmO_2) y la concentración de hemoglobina (Hgb) en el vasto lateral durante diferentes protocolos de ejercicio de fuerza muscular hasta el fallo. Un total de 16 hombres voluntarios (media \pm DE, edad = $36,12 \pm 6,40$ años; índice de masa corporal (IMC) = $26,65 \pm 2,73$ kg/m²) accedieron a participar en este estudio. Se realizaron dos sesiones de familiarización y una de evaluación en las que se ejecutaron tres protocolos de fuerza, uno de ellos de carga isométrica (P1) y dos de carga dinámica (P2 y P3), en las que se midió la SmO_2 (%) y la Hgb (g/dL) al inicio y al final. Para el P1, se registraron tres series de ocho segundos de fuerza isométrica máxima (FIMa) con periodos de descanso de 60 segundos entre cada serie y de cada serie se obtuvieron datos de fuerza isométrica media (FIMe) y fuerza isométrica pico (FIP). Cinco minutos más tarde se realizó el P2, con una carga inicial del 40% de la FIME. Treinta minutos más tarde, se llevó a cabo el P3 con una carga inicial del 40% de la FIP. En cada protocolo, en los que el sujeto debía realizar extensiones de rodilla hasta 180°, se realizaron incrementos intra-repetición de 2 kg hasta el fallo muscular. Los resultados obtenidos demostraron que (a) los niveles de reposo de SmO_2 y Hgb son de 66.72 ± 12.06 % y 12.03 ± 0.37 g/dL respectivamente, (b) no se observaron diferencias significativas entre las cargas medias de los protocolos para SmO_2 y (c) la Hgb muscular difirió significativamente entre el reposo y P1 y el reposo y P3. Por todo esto, se concluye que los ejercicios de intensidad creciente y de corta duración no modifican significativamente la SmO_2 . Sin embargo, la Hgb aumenta sustancialmente en comparación con los valores de referencia.

AUTOPERCEPCIÓN DE LA CALIDAD DE VIDA EN SALUD DE PERSONAS MAYORES INSTITUCIONALIZADAS

Augsburger, Nicole; González, Mauricio; León, Claudia

RESUMEN: El aumento de la esperanza de vida y el progresivo envejecimiento de la población ha significado un desafío tanto para las políticas públicas como para el área socio sanitario. Se ha evidenciado que toma especial relevancia considerar aspectos como el bienestar subjetivo y la autopercepción del estado de salud de las personas además del área clínica y social al momento de considerar las necesidades de las personas mayores. El presente estudio busca relacionar la autopercepción de salud en personas mayores institucionalizadas con su capacidad funcional, estado anímico y patologías. Para este trabajo el muestreo fue de tipo no aleatorio, con 295 potenciales candidatos, de los cuales se obtuvo una muestra final de 68 participantes en conformidad a los criterios de inclusión y exclusión. Los instrumentos utilizados a: Escala Visual Análoga de Percepción del Estado de salud del Cuestionario EQ-5D; Índice de Barthel; Escala de Depresión Geriátrica Yesavage Abreviada, además de entrevista de datos socio-demográficos, analizado de forma descriptiva a través de programa SPSS. Los resultados evidencian una correlación estadísticamente significativa entre la autopercepción de salud y el estado anímico en personas mayores de sexo femenino. La autopercepción de calidad de vida en salud, no se vio influenciada o relacionada con la cantidad de enfermedades presentes, el nivel de dependencia o los años de institucionalización. En conclusión, se evidencia una relación entre la autopercepción de salud con aspectos emocionales, edad y nivel educacional de los entrevistados, las cuales no eran consideradas como objetivo de investigación.

RELACIÓN ENTRE EL FITNESS FUNCIONAL Y LA CALIDAD DE VIDA ASOCIADA A LA SALUD DEL ADULTO MAYOR CON SÍNDROME METABÓLICO

Javier Conde-Pipó, María José Jiménez-Casquet, Leticia Cantero, Alejandro López-Moro, Fátima Olea-Serrano, Josep Antoni Tur-Mari, Miguel Mariscal-Arcas

RESUMEN: El síndrome metabólico (MetS) es un conjunto de factores de riesgo interrelacionados para las enfermedades cardiovasculares (CVD), aterosclerosis y diabetes mellitus tipo II, responsable tanto de un aumento de dos veces el riesgo de enfermedad coronaria como del riesgo de enfermedad cerebrovascular, así como de un aumento de 1,5 veces del riesgo de mortalidad por todas las causas. En el caso del adulto mayor con MetS, un bajo fitness funcional podría influir de forma negativa no sólo en la salud metabólica, sino también en la calidad de vida relacionada con la salud (HRQoL). El objetivo del presente estudio transversal fue evaluar el fitness funcional del adulto mayor con síndrome metabólico y su relación con la calidad de vida asociada a la salud (HRQoL). En el mismo participaron 209 personas de entre 55 y 75 años, todas con síndrome metabólico de las cuales el 57.8% fueron hombres (n= 121) y el 42.20% mujeres (n= 88). De todos ellos se obtuvieron medidas antropométricas, tensión sanguínea y analíticas de sangre. Para evaluar las capacidades fisiológicas implicadas en la ejecución de las tareas diarias se empleó una batería de test físicos funcionales, a partir de la cual se construyó un Score de Fitness Funcional (FFS). Los cuestionarios RAPA-Q, SF-36, de adherencia a la dieta mediterránea y de frecuencia de consumo de alimentos fueron empleados para evaluar la actividad física (AF), la calidad de vida asociada a la salud y el patrón de alimentación respectivamente. Los resultados muestran que las mayores correlaciones se dieron entre la dimensión función física del HRQoL y la flexibilidad del tren inferior ($r=0.51$), la capacidad aeróbica ($r=0.43$), el equilibrio ($r=0.41$) y fuerza de manos en posición de pie ($r=0.40$). Los modelos de regresión logística mostraron asociación entre presentar valores por encima de la media poblacional de la componente sumaria física de la HRQoL y niveles altos de FFS (ORadj.1.89, IC 1.02-3.53, $p=0.044$), así como con niveles altos de AF (ORadj.3.25, IC 1.48-7.50, $p=0.003$) y niveles medios (ORadj.2.21, IC 1.01-4.51, $p=0.046$). El grupo con mejor salud física presentó medias superiores en capacidad aeróbica ($p<0.001$; $d=0.52$; IC=0.23-0.80), fuerza de tren inferior ($p<0.001$; $d=0.47$; 0.20-0.75), equilibrio ($p=0.011$; $p=0.32$; IC=0.04-0.59) y agilidad ($p=0.052$; $d=0.32$; IC=0.05-0.59). En conclusión, en adultos mayores con MetS, un mayor FFS, y dentro de éste, la capacidad aeróbica, la fuerza de piernas, el equilibrio y la agilidad, se asocian positivamente a una mejor función física, la salud general y la componente física de la HRQoL. Tanto el FFS como la componente física de la HRQoL son asociados de forma positiva a la AF siempre que se practique a niveles superiores a los recomendados por la OMS.

INFLUENCIA DE LOS HÁBITOS ALIMENTARIOS Y LA ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA EN LA CONDICIÓN FÍSICA DURANTE EL EMBARAZO. EL PROYECTO GESTAFIT

Marta Flor-Aleman, Teresa Nestares, Nuria Marín-Jiménez, Laura Baena-García, Sandra Solaguren-Beascoa, Milkana Borges-Cosic, Lidia Romero-Gallardo, Virginia. A. Aparicio

RESUMEN: El objetivo del estudio fue analizar la asociación de los hábitos alimentarios y la adherencia a la Dieta Mediterránea (DM) con la condición física (CF) a lo largo del embarazo. Un total de 152 mujeres embarazadas caucásicas (edad: $32,9 \pm 4,6$ años) participaron en este estudio longitudinal. Se utilizó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para evaluar los hábitos dietéticos y la adherencia a la DM. La CF se evaluó en las semanas 16 y 34 de gestación. La flexibilidad de la parte superior del cuerpo se evaluó con el test de juntar las manos tras la espalda (back-scratch test). La capacidad cardiorrespiratoria se evaluó con la prueba de marcha de 6 minutos. La fuerza muscular relativa de la parte superior del cuerpo se calculó como la fuerza de prensión manual dividida por el peso materno. Se creó un índice de CF agrupado (CF global) en el que las puntuaciones más altas indicaban mejores niveles de CF. Los resultados mostraron que una mayor adherencia a la DM se asoció con una mayor flexibilidad de la parte superior del cuerpo, capacidad cardiorrespiratoria, fuerza de prensión manual y CF global en las semanas 16 y 34 de gestación (todos, $p < 0,05$). El grupo con la mayor adherencia a la DM (Tertil 3) tuvo una mayor CF general en las semanas 16 y 34 de gestación en comparación con el grupo con la menor adherencia a la DM (Tertil 1). Además, una mayor ingesta de frutas, verduras, pescado y frutos secos y una menor ingesta de aves de corral se asoció con una mayor CF global en las semanas 16 y 34 de gestación (todos, $p < 0,05$). En conclusión, una mayor adherencia a la DM, una mayor ingesta de frutas, verduras, pescado y frutos secos y una menor ingesta de aves de corral, se asoció con mayores niveles de CF a lo largo de la gestación. Aumentar la adherencia a la DM podría ser una herramienta útil para mejorar la CF. Dado que unos mayores niveles de PF podrían tener importantes implicaciones para el bienestar y la salud de las mujeres y su descendencia, promover la adherencia a una dieta de alta calidad durante el embarazo es de interés para la salud pública.

LA HIPÓTESIS DE LA ESTIMULACIÓN COGNITIVA PODRÍA ESTAR INCOMPLETA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS

Alejandro Gutiérrez Capote, David Cárdenas Velez, Francisco Alarcón López, Iker Medinabeitia Cabrera, Maria de Orbe Moreno y Dario Martinez.

RESUMEN: Los estudios que basan sus intervenciones en la práctica de ejercicio físico indican que la actividad física puede generar consecuencias positivas sobre las funciones ejecutivas tanto de forma aguda. Aunque existe la problemática de que son muy pocos los estudios con la suficiente calidad metodológica para asumir relaciones de causalidad según las revisiones más recientes. En el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos: (I) recopilar toda la información de calidad publicada hasta el momento sobre las intervenciones que analizan el efecto agudo sobre las funciones ejecutivas, (II) ver como los autores actúan a nivel metodológico al analizar los efectos agudos y (III) analizar los resultados obtenidos en los programas de intervención. Para ello se realizó una búsqueda sistemática de las bases de datos electrónicas Web of Science, PubMed/MEDLINE, Scopus y Sport Discus desde el 1 de enero de 2011 hasta el 29 de agosto de 2021, por dos investigadores independientes. Se realizaron meta-análisis para examinar el efecto de la actividad física sobre las funciones ejecutivas en ensayos controlados aleatorios intrasujeto. Un total de 17 estudios originales, con 463 participantes en total cumplieron con todos los criterios de elegibilidad y se incluyeron en el meta-análisis. Se clasificaron en función de del tipo de intensidad de la práctica y función ejecutiva y dimensión evaluada en cada test. El modelo de efectos aleatorios para los meta-análisis se realizó con RevMan versión 5.4 para facilitar el análisis de los estudios. Se encontraron bajos tamaños de efectos en el test N-Back para la memoria de trabajo tanto para la precisión (ES -0,16; IC del 95%: -0,40; 0,07; p=0,03), como para el tiempo de reacción (ES 0,16; IC del 95%: 0,01; 0,30; p=0,16). Y para la inhibición tanto en el test de Eriksen Flanker, precisión (ES -0,04; IC del 95%: -0,26; 0,09; p=0,93) y tiempo de reacción (ES 0,05; IC del 95%: -0,08; 0,17; p=0,43). Como el Color Word Stroop Test, precisión (ES 0,07; IC del 95%: -0,04; 0,17; p=0,98), tiempo de reacción (ES 0,05; IC del 95%: 0,41; 0,32; p=1,00). Y tamaños de efecto grandes en Stroop test (ES -3,16; IC del 95%: -3,70; 2,62; p=0,11) y Reverse Stroop (ES -2,07; IC del 95%: -3,52; -0,63; p=0,00001).

ESTUDIO DE RECUPERACIÓN DE JUGADORES DE FÚTBOL TRAS RECONSTRUCCIÓN DEL LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR ENTRE AUTOINJERTOS DE TENDÓN CUADRIPITAL CON PASTILLA Y TENDÓN DEL ISQUIOTIBIAL

Fahed Herbawi, María López-Garzón, Paula Postigo-Martín, Lucía Ortiz-Comino, Mario Lozano-Lozano, Carolina Fernández-Lao.

RESUMEN: La reconstrucción de ligamento cruzado anterior (LCA) en futbolistas es muy frecuente. Actualmente la elección del injerto es aún controvertida, pudiendo ser un aloinjerto si pertenece a un donante o bien un autoinjerto si pertenece al propio paciente. Entre los autoinjertos existen distintas posibilidades, el tendón de isquiotibial (TI), de hueso-tendón rotuliano-hueso (HTH) y el tendón cuadrípital (TC). Además, en los últimos años ha empezado a utilizarse, con resultados positivos, el tendón cuadrípital con pastilla (TC con pastilla). Este trabajo tiene como objetivo comparar los resultados clínicos y funcionales entre los autoinjertos del TC con pastilla frente a autoinjertos del TI, antes de la operación y a los 3 y 6 meses después de la reconstrucción del LCA en jugadores de fútbol. Para ellos se realizó un ensayo controlado aleatorizado con 14 pacientes divididos en dos grupos, TC con pastilla y TI. Todos los pacientes siguieron el mismo programa de rehabilitación durante un mes antes de la cirugía y seis meses después de la misma. Además, para comparar ambos grupos se valoraron distintos parámetros de fuerza muscular, valores funcionales de la rodilla mediante el test de salto a una pierna, artrometría, los cuestionarios de Tegner y Cincinnati y por último, el umbral de dolor medido por mediante algometría. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados excepto en el umbral de dolor medido por presión, concretamente en el área del músculo vasto lateral para el grupo TC con pastilla (98.8 ± 86.3 , $P = 0.021$) frente al grupo TI (22.8 ± 31.4). Sin embargo, el grupo TC con pastilla muestra un mejor resultado en la prueba de fuerza de los isquiotibiales a los tres (TC con pastilla = 24.2 ± 18.6 ; TI = 3.1 ± 37.4) y seis meses (TC con pastilla = 49.6 ± 42.9 ; TI = 2.8 ± 43.0) después de la cirugía, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos. En conclusión, ambos injertos son igual de eficaces a los 3 y 6 meses de evolución para la reconstrucción del LCA en jugadores de fútbol. Mientras tanto, el grupo TC con pastilla muestra un mejor resultado en algunas variables. Estudios con mayores tamaños muestrales serán necesarios para confirmar estos resultados.

IMPORTANCIA DE LA ACTIVIDAD FÍSICA EN LA SALUD ÓSEA DE NIÑOS CON ENFERMEDAD CELÍACA

Bonillo R, Moral R, Martín-Masot R, M. Flor-Alemanly, Aparicio V, López-Frías M, Nestares T

RESUMEN: Existe una relación entre la Enfermedad Celíaca (EC) y las alteraciones en el metabolismo óseo que tiene mayor importancia en niños en edad de crecimiento, habiéndose comprobado una diferencia significativa en la composición corporal de niños con EC con respecto a los sanos (Lionetti et al, 2020). Los niños con EC deben adherirse estrictamente a la dieta sin gluten (DSG) para normalizar su peso y densidad mineral ósea (DMO), pero no siempre se consigue, por lo que la actuación sobre factores modificables asociados con la DMO, como son los niveles de actividad física (AF), tiene interés para la salud del niño celíaco. El objetivo fue explorar el papel de la actividad física (AF) sobre la composición corporal y DMO de niños celíacos. Se trata de un estudio transversal en 99 niños (de entre los 7 y los 18 años de edad); 40 sanos y 59 diagnosticados de EC, con una larga (>18 meses, $n = 41$) o reciente (<18 meses, $n = 18$) adherencia a la DSG. Se valoró la AF mediante cuestionario IPAQ [1] y la composición corporal mediante absorciometría dual de rayos X [2]. Comité Ética Ref. 201202400000697. Tras ajustar posibles variables confusoras, el grupo celíaco mostró significativamente menor peso corporal ($p=0,034$), masa magra ($p=0,003$), densidad mineral ósea ($p=0,006$) y Z-Score óseo ($p=0,036$) que el grupo control, incluso en los niños que habían mantenido una DSG durante más de 18 meses, lo que representa el 69% del grupo de EC. Sin embargo, los niños celíacos que habían dedicado más tiempo en la realización de AF vigorosa, presentaban una mayor DMO y masa magra ($p=0,078$ y $p=0,0020$, respectivamente) que los niños sanos, independientemente del tiempo que habían seguido la DSG. Los niños que cumplen con las recomendaciones de AF, siguiendo además un DSG durante al menos 18 meses, mostraron menor peso corporal ($p = 0,018$), menor IMC ($p = 0,032$), menor masa grasa ($p = 0,037$) y menor porcentaje de grasa corporal ($p = 0,047$) que los niños que no cumplen con dichas recomendaciones.

[1] Craig CL; Marshall AL; Sjöström M; Bauman AE; Booth ML; Ainsworth BE; Pratt M; Ekelund U; Yngve A; Sallis JF et al. International physical activity questionnaire: 12-Country reliability and validity. Med. Sci. Sports Exerc. 2003, 35, 1381-1395. [2] Lionetti E, Galeazzi T, Dominjanni V, Acquaviva I, Catassi GN, Iasevoli M, ... Catassi C. Lower Level of Plasma 25-Hydroxyvitamin D in Children at Diagnosis of Celiac Disease Compared with Healthy Subjects: A Case-Control Study. The Journal of Pediatrics. 2020.

EFFECTO DE LA HORA DEL DÍA DEL EJERCICIO SOBRE LOS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS

Sevilla-Lorente R., Carneiro-Barrera A., Molina-García P., Ruiz J. R., Amaro-Gahete F. J.

RESUMEN: Las células de los mamíferos tienen un reloj molecular interno que controla el metabolismo y a su vez se ve afectado por factores externos (p. ej. dieta o ejercicio). El ejercicio puede modular la maquinaria circadiana en el músculo esquelético, por ello los beneficios del ejercicio sobre la salud cardiovascular pueden ser diferentes dependiendo de la hora del día en que se realice. Esta revisión sistemática y meta-análisis tiene como objetivo comparar el efecto agudo de una sesión de ejercicio realizada en la mañana frente a la tarde sobre los factores de riesgo cardiovascular en adultos (i. e., presión arterial, glucosa en sangre y lípidos en sangre). Para ello, se hizo una búsqueda sistemática en "PubMed" y "Web Of Science" considerando toda la literatura existente hasta noviembre de 2020. Solo se incluyeron estudios con diseño cruzado para evitar sesgo inter-sujeto. Para cada variable dependiente, se realizaron tres meta-análisis: a) efecto agudo del ejercicio en la mañana (pre vs. post), b) efecto agudo del ejercicio en la tarde (pre vs. post), y c) efecto agudo de la hora del día del ejercicio (efecto de la mañana vs. la tarde). Se calcularon los tamaños del efecto estandarizados (g de Hedges) utilizando el método de varianza inversa y modelos de efectos aleatorios. El meta-análisis de 11 estudios cruzados (144 participantes) reveló que el ejercicio disminuye significativamente la presión arterial sistólica en la mañana y en la tarde ($g = -0.48$, $g = -0.65$, respectivamente), siendo estos efectos similares al compararse ambas sesiones de mañana y tarde ($g = 0.02$). El meta-análisis de 11 estudios cruzados (144 participantes) no mostró ningún efecto significativo del ejercicio sobre la presión arterial diastólica en la mañana ($g = -0.19$), la tarde ($g = -0.22$) o la mañana frente a la tarde ($g = 0.01$). El meta-análisis de 7 estudios cruzados (103 participantes) mostró una tendencia a la disminución de la presión arterial media tras el ejercicio en la mañana ($g = -0.36$) y una disminución significativa tras el ejercicio en la tarde ($g = -0.65$), no siendo significativa la diferencia al comparar el efecto de la mañana frente a la tarde ($g = 0.02$). El meta-análisis de 9 estudios cruzados (89 participantes) mostró un incremento significativo de la glucosa en sangre tras el ejercicio en la mañana ($g = 0.60$), mientras que no se encontró un efecto significativo tras el ejercicio en la tarde ($g = 0.18$). Al comparar ambos efectos, el incremento producido por el ejercicio en la mañana tendió a ser mayor que el producido por el ejercicio en la tarde ($g = 0.21$). No se meta-analizaron los efectos sobre los lípidos en sangre dado que solo encontramos 1 estudio que cumpliera los criterios de inclusión. En resumen, los resultados expuestos relevan que una sesión de ejercicio reduce la presión arterial sistólica de forma similar en la mañana y en la tarde. Sobre la glucosa en sangre, parece haber una tendencia a que ésta se incremente en mayor medida después del ejercicio en la mañana comparado con la tarde.

UNA MEJOR CONDICIÓN FÍSICA AUTOREPORTADA SE ASOCIA A MAYOR BIENESTAR EMOCIONAL Y MENOR ANGUSTIA EMOCIONAL DURANTE EL EMBARAZO. EL PROYECTO GESTAFIT

Sandra Solaguren-Beascoa², Nuria Marín-Jiménez^{2,3}, Marta Flor-Alemany^{1,2}, Laura Baena-García⁴, Teresa Nestares^{1,2}, Virginia A. Aparicio^{1,2}. 1Department of Physiology, Institute of Nutrition and Food Technology, Biomedical Research Centre, University of Granada, Spain. 2Sport and Health Research Centre, University of Granada, Spain. 3GALENO Research Group, Department of Physical Education. Faculty of Education Sciences, University of Cádiz, Cádiz, Spain. 4Department of Nursing, Faculty of Health Sciences, University of Granada, Ceuta, Spain.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue explorar la asociación entre la condición física (CF) autoreportada y el bienestar y la angustia emocionales en mujeres embarazadas. Se trata de un estudio longitudinal realizado en una muestra de 158 mujeres gestantes participantes en el proyecto GESTAFIT (edad media: 33,0±4,7 años, índice de masa corporal pre-gestacional: 24,2±4,2 kg/m²). Las evaluaciones se llevaron a cabo en las semanas 16 y 34 de gestación. La CF materna autoreportada se evaluó a través de la International Fitness Scale, donde puntuaciones más altas indican mayores niveles de CF. El cuestionario PANAS (positive and negative affect schedule) se empleó para medir emociones positivas y negativas (i.e., bienestar y angustia emocionales, respectivamente). En la semana 16 de gestación, mayores niveles de CF general, capacidad cardiorrespiratoria, fuerza muscular y velocidad-agilidad se asociaron con mayor bienestar emocional y menor angustia emocional (todos, p<0.05). En la semana 34 de gestación, mayores niveles de capacidad cardiorrespiratoria se asociaron con mayor bienestar emocional (p<0,05) y mayores niveles de CF general, velocidad-agilidad y flexibilidad se asociaron con menor angustia emocional (todos, p<0,05). En conclusión, mayores niveles de CF autoreportada a lo largo de la gestación se asocian con más emociones positivas y menores negativas y, por tanto, mayor bienestar emocional y menos angustia.

ASOCIACIÓN DE LOS TRASTORNOS RESPIRATORIOS DEL SUEÑO CON MARCADORES CARDIOMETABÓLICOS E INFLAMATORIOS EN NIÑOS CON SOBREPESO/OBESIDAD

Lucia V. Torres-Lopez (1); Cristina Cadenas-Sanchez (1,2); Jairo H. Migueles (3,1,4); Abel Plaza-Florido (1); Jose J Gil-Cosano (1) y Francisco B. Ortega (1,5,4).

1. Grupo de investigación PROFITH "PROmociónando el FITness y la salud a través de la actividad física", Instituto Mixto de Deporte y Salud (iMUDS), Departamento de Educación Física y Deportiva, Universidad de Granada, Granada, España. 2. Instituto de Innovación y Sostenibilidad en la Cadena Agroalimentaria (IS-FOOD), Universidad Publica de Navarra, Pamplona, España. 3. Department of Health, Medicine and Caring Sciences, Linköping University, Linköping, Sweden. 4. Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institutet, Huddinge, Sweden. 5. Faculty of Sport and Health Sciences, University of Jyväskylä, Jyväskylä, Finland.

RESUMEN: Aproximadamente entre el 4-11% de los niños sufren trastornos respiratorios del sueño (TRS) y los niños con obesidad tienen un mayor riesgo. El objetivo de este estudio fue examinar la asociación de los TRS informado por los padres con marcadores cardiometabólicos e inflamatorios en niños con sobrepeso/obesidad. En este estudio transversal se incluyeron 109 niños de 8 a 12 años con sobrepeso/obesidad. Los TRS se evaluaron mediante la escala de los TRS derivada de la versión reducida del Cuestionario Pediátrico del Sueño (versión en español). Se incluyeron marcadores cardiometabólicos medidos en sangre en ayunas (biomarcadores de lípidos como el colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos, insulina y glucosa). Además, se calculó la presión arterial media y el índice de resistencia a la insulina (HOMA). Se calcularon dos puntuaciones de síndrome metabólico (MetS), previamente validadas y calculadas como la media normalizada de los z-score. La primera puntuación (MetS 1) incluyó las variables de colesterol HDL, circunferencia de cintura, triglicéridos, glucosa y el promedio de la presión arterial sistólica y diastólica; la segunda puntuación (MetS 2) las de circunferencia de cintura, ratio triglicéridos-HDL, insulina y presión arterial media. Por último, se incluyeron marcadores inflamatorios (IL-6, IL-1B, la proteína C reactiva (CRP) y el factor de necrosis tumoral alfa). Se realizaron análisis de regresión lineal jerárquica para examinar la asociación de los TRS con marcadores cardiometabólicos e inflamatorios. Los posibles factores de confusión (edad, sexo, nivel de educación de los padres, oleada de participación, velocidad máxima de crecimiento e índice de masa grasa) se incluyeron en la regresión por pasos para probar su asociación con las variables, de modo que solo los factores de confusión relevantes se mantuvieron en los modelos finales. Después de ajustar por adiposidad (índice de masa grasa), los TRS se asociaron positivamente con la CRP ($\beta = 0.354$, $P = 0.002$). Sin embargo, la asociación de los TRS con la presión arterial media ($\beta = 0.165$ y $P = 0.087$) y HOMA ($\beta = 0.140$ y $P = 0.102$) desapareció después de ajustar por adiposidad. No se encontró ninguna otra asociación de los TRS con el resto de variables estudiadas (todas $P > 0.05$). Nuestro estudio contribuye a la literatura al mostrar que los TRS se asociaron con niveles más altos de CRP. Por otro lado, no se encontró ninguna asociación entre los TRS con los restantes marcadores cardiometabólicos e inflamatorios en niños con sobrepeso/obesidad. Futuros estudios son necesarios para corroborar o contrastar nuestros hallazgos.

PÓSTERS

1. Búsqueda de nuevos compuestos antifúngicos frente a fitopatógenos a partir de líquenes xerofíticos de afloramientos yesíferos
2. Epigenética de hongos de la hojarasca de Sudáfrica como fuente de metabolitos bioactivos frente hongos fitopatógenos
3. Evaluación de la actividad antimicrobiana de compuestos de Allium frente a fitopatógenos

BÚSQUEDA DE NUEVOS COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS FRENTE A FITOPATÓGENOS A PARIR DE LÍQUENES XEROFÍTICOS DE AFLORAMIENTOS YESÍFEROS

Ignacio Fernández Pastor, Víctor González Menéndez, Kevin Martínez Andrade, Rachel Serrano Bacallao, Guillermo Benítez, Manuel Casares Porcel y Fernando Reyes.

RESUMEN: Los líquenes son organismos pluricelulares simbióticos formados por la asociación de un hongo y un alga microscópica. Uno de los beneficios más notables de esta simbiosis ha sido conferir a los líquenes de una capacidad de adaptación magnífica; permitiéndoles sobrevivir en los entornos más inhóspitos de del planeta desde los polos hasta los trópicos. Debido a las condiciones especiales de sustrato, los afloramientos liquénicos endémicos en zonas yesíferas son de especial interés y en ese sentido los afloramientos españoles han sido ampliamente estudiados durante los últimos años desde un punto de vista botánico [1]. El Diccionario de Productos Naturales de Chapman & Hall, contiene aproximadamente 1000 metabolitos obtenidos a partir de líquenes. En su mayoría son compuestos que provienen de las rutas de shikimato, la de mevalónico o la de acetyl polimalonilo [2]. Para varios de estos compuestos liquénicos como el ácido norcolensoico, ácido úsnico y sus derivados o el ácido protocetrárico se ha descrito actividad antimicrobiana. Partiendo de estas premisas nuestro estudio pretende confirmar si los líquenes asociados a zonas yesíferas constituyen un buen punto de partida para la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antifúngica frente a fitopatógenos. Estos compuestos pueden generar un gran impacto en la agricultura, ya que un 30% de las pérdidas de la producción mundial de cultivos están relacionadas con enfermedades fúngicas de plantas [3]. Para ello, a partir de 1 g de seis especies de líquenes recolectados en los afloramientos yesíferos de Sorbas (*Diploschistes ocellatus* y *Seiophora lacunosa*) y cuatro en el afloramiento de Tabernas (*Cladonia foliacea*, *Acarospora placodiformis*, *Squamarina lentigera* y *Xanthoparmelia pokornyii*), se obtuvieron extractos orgánicos mediante maceración en acetona, los cuales fueron testados frente a un panel de 7 hongos fitopatógenos. Los extractos activos de *Cladonia foliacea*; *Xanthoparmelia pokornyii* y *Squamarina lentigera* se analizaron mediante HPLC-MS/MS y Molecular Networking con el fin de identificar los posibles metabolitos responsables de la actividad antifúngica. En todos ellos se identificaron compuestos comunes de líquenes como: ácido protocetrárico, ácido fumaroprocetrárico, ácido úsnico, así como un nuevo derivado de ácido fumaroprocetrárico presentes en *Cladonia foliacea*. Ácido divárico, everninato de etilo, ácido divaricático y ácido estenospórico en *Xanthoparmelia pokornyii*. Ácido sekikaico, ácido úsnico y ácido 4'-O-Metilpaludósico en *Squamarina lentigera*. Tras un fraccionamiento cromatográfico de los extractos, los ácidos divaricático, estenospórico, sekikaico, 4'-O-Metilpaludósico y el nuevo derivado de ácido fumaroprocetrárico fueron purificados y testados frente a un panel de fitopatógenos fúngicos (*Zymoseptoria Tritici*, *Botrytis Cinerea*, *Colletotrichum Acutatum* y *Fusarium TR4*). En este análisis se ha encontrado por primera vez actividad antifúngica en los compuestos ácido 4'-O-Metilpaludósico, ácido divaricático y ácido estenospórico. Nuestro estudio permite concluir que los líquenes endémicos de afloramientos yesíferos constituyen una nueva fuente de metabolitos secundarios con potencial uso como agentes biopesticidas en el tratamiento de infecciones fúngicas en plantas.

[1] Moya, P., Molins, A., Chiva, S., Bastida, J. & Barreno, E. Symbiotic microalgal diversity within lichenicolous lichens and crustose hosts on Iberian Peninsula gypsum biocrusts. *Sci. Rep.* 10, 14060 (2020). [2] Stocker-Wörgötter, E. Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Nat. Prod. Rep.* 25, 188–200 (2008). [3] Savary, S. et al. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat. Ecol. Evol.* 3, 430–439 (2019).

EPIGENÉTICA DE HONGOS DE LA HOJARASCA DE SUDÁFRICA COMO FUENTE DE METABOLITOS BIOACTIVOS FRENTE HONGOS FITOPATÓGENOS

Rachel Serrano, Víctor González-Menéndez, Germán Martínez, Clara Toro, Jesús Martín, Olga Genilloud and José R. Tormo.

RESUMEN: Las infecciones provocadas por hongos fitopatógenos suponen entre el 70-80% de las enfermedades que sufren los cultivos agrícolas, resultando ser una de las principales causas de grandes pérdidas económicas a nivel mundial [1]. En la actualidad, el uso de microorganismos para el control biológico se ha convertido en la alternativa más eficiente y respetuosa con el medio ambiente para el tratamiento y protección de cultivos agrícolas. El empleo de productos naturales de origen microbiano es una estrategia alternativa a la utilización de agentes tóxicos, no renovables y de origen sintético. Los hongos constituyen una importante fuente de nuevos metabolitos secundarios con aplicaciones de gran valor en diferentes sectores industriales. Los estudios de ingeniería genética han puesto de manifiesto el enorme potencial biosintético codificado en el genoma de los hongos, que puede permanecer silente bajo condiciones de cultivo estándar. El uso de modificadores epigenéticos durante los procesos de fermentación, como el ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), ha sido ampliamente estudiado con el fin de inducir cambios metabolómicos y modular la producción de dicha diversidad química sugerida por los genomas de hongos [2]. Por todo ello, nos propusimos evaluar los efectos metabolómicos producidos por la adición de SAHA sobre una población de hongos muy diversa, donde buscar nuevas moléculas con actividad antifúngica frente a hongos fitopatógenos de interés agrícola. Para ello, se decidió estudiar una población de hongos aislados de muestras de hojarasca recolectadas en Sudáfrica, debido a la gran diversidad de especies fúngicas descritas en este lugar [3-4]. Se seleccionaron 232 cepas fúngicas muy diversas taxonómicamente, depositadas en la colección de cultivos de la Fundación MEDINA, procedentes de hojarasca de plantas locales como *Brabejum stellatifolium*, *Culm restio*, *Chrysanthemoides monilifera*, *Diosma subulata*, *Elegia capensis*, *Protea repens*, *Protea laurifolia*, *Restio multiflorus*, *Sideroxylon inerme*, *Tarchonanthus camphorates*, *Thamnochortus* sp., entre otras. Las cepas fueron cultivadas en 4 medios líquidos (LSFM, MCKX, SMK-II y YES) y un medio sólido (BRFT), en presencia y ausencia de SAHA. Como resultado, se generó una librería de 2.362 extractos recopilados en placas multipocillo para ser testados frente a cuatro cepas de hongos fitopatógenos: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium proliferatum* and *Magnaporthe grisea*. Se compararon sus diferentes tasas de actividad antifúngica frente a cada cepa fitopatógena y se seleccionaron los extractos activos de interés para su estudio mediante espectrometría de masas (LC-MS). El análisis metabolómico paralelo permitió identificar una gran variedad de moléculas inducidas ya descritas (en 118 cepas) y otras potencialmente nuevas (en 114 cepas). Este estudio sugiere que la comunidad fúngica asociada a la hojarasca de Sudáfrica presenta un gran potencial biosintético para la producción de nuevos metabolitos secundarios con actividad antifúngica. Además, los resultados confirman que la adición de SAHA durante los procesos de fermentación de hongos puede determinar cambios significativos en el perfil metabolómico e inducir la producción de nueva diversidad química con posibles aplicaciones como agentes biopesticidas.

[1] Peng Y, Li SJ, Yan J, Tang Y, Cheng JP, Gao AJ, Yao X, Ruan JJ and Xu BL. Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. *Front. Microbiol.* 2021, 12. [2] Li CY, Chung YM, Wu YC, Hunyadi A, Wang CC, Chang FR. Natural products development under epigenetic modulation in fungi. *Phytochem. Rev.* 2020, 19. [3] Joanne E, Taylor JE, Lee S, Crous PW. Biodiversity in the Cape Floral Kingdom: Fungi occurring on Proteaceae. *Mycol. Res.* 2001, 105. [4] Crous PW, Rong IH, Wood A, Lee S, Glen H, Botha W, Slippers B, de Beer WZ, Wingfield MJ, Hawksworth DL. How many species of fungi are there at the tip of Africa? *Stud. Mycol.* 2006, 55.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE COMPUESTOS DE ALLIUM FRENTE A FITOPATÓGENOS

Abdelkader Boutine, Ana Falcón-Piñeiro, J.D. García-López, Enrique Guillamón, Alberto Baños

Departamento de I+D. DMC Research. Alhendín, Granada (Spain)

RESUMEN: El incremento en la última década de enfermedades y plagas que afectan a los cultivos, y las consiguientes pérdidas económicas ocasionadas en el sector han propiciado la búsqueda de nuevas estrategias de manejo de plagas. Por otro lado, el impacto medioambiental derivado del incremento del uso de productos fungicidas y fitosanitarios de origen químico ha derivado en la búsqueda de alternativas naturales y sostenibles. Entre las soluciones que destacan por su efectividad se encuentran el uso de microorganismos de control biológico y de extractos botánicos. Entre los últimos, los extractos de aliáceas y sus principios activos de tipo azufrado ocupan un lugar destacado al resultar potencialmente inocuos y ambientalmente sostenibles. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad antimicrobiana de dos extractos ricos en compuestos organosulfurados del tipo tiosulfonato y tiosulfonato, derivados de ajo (*Allium sativum*) y cebolla (*Allium cepa*). Para ello, se llevaron a cabo distintas metodologías de estudio *in vitro*, tales como el test de difusión en agar según Kirby-Bauer y la determinación de las Concentraciones Mínimas Bactericidas/Fungicidas (CMB/F). Además, se determinó la actividad antimicrobiana ligada a la fase gaseosa de los compuestos predominantes en ambos extractos mediante un test de difusión aérea y, en el caso de hongos fitopatógenos, el efecto sobre el desarrollo micelial. Ambos extractos se evaluaron frente a una amplia colección de microorganismos diana que incluye bacterias fitopatógenas de los géneros *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xanthomonas* y *Clavibacter*, y hongos como *Penicillium*, *Fusarium*, *Botrytis* y *Alternaria*, entre otros. Tanto el extracto de cebolla como el de ajo han mostrado una actividad antimicrobiana significativa frente a la totalidad de fitopatógenos ensayados, destacando la actividad antimicrobiana ligada a la fase gaseosa de sus metabolitos. Estos resultados ponen de manifiesto el elevado potencial de estos productos como biopesticidas para agricultura, si bien es necesario llevar a cabo nuevos estudios en condiciones reales de campo, así como profundizar en los aspectos relativos a su seguridad e inocuidad ambiental.

PÓSTERS

1. Identificación de la proteína centromérica P como causante de hipoacusia restringida a bajas frecuencias
2. Evaluación de la existencia de dolor orofacial crónico en mujeres con fibromialgia

IDENTIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA CENTROMÉRICA P COMO CAUSANTE DE HIPOACUSIA RESTRINGIDA A BAJAS FRECUENCIAS

Paula Robles-Bolivar, Alba Escalera-Balsera, Alberto M. Parra-Perez, Pablo Roman-Naranjo, Alvaro Gallego-Martinez, Jose A Lopez-Escamez

RESUMEN: La hipoacusia en bajas frecuencias es una condición rara, caracterizada por pérdidas en frecuencias inferiores a 1 kHz, acompañada de plenitud ótica y acúfenos, pero sin vértigo. Cuando persiste a lo largo del tiempo y solapa con síntomas vestibulares se considera un síntoma inicial en el desarrollo de la enfermedad de Meniere (EM). Hasta la fecha, solo algunos genes han sido asociados a esta patología, tales como DIAPH1, WSF1, TNT, SLC26A4 o CCDC50, siempre con patrón de herencia autosómico dominante. El propósito de este estudio es determinar la causa genética de la pérdida auditiva en frecuencias bajas en una familia Suiza a lo largo de tres generaciones. Los casos presentan un perfil audiológico ascendente, con pérdidas moderadas-severas por debajo de 0.5 kHz, progresión a frecuencias altas a lo largo del tiempo, sin acúfenos ni síntomas vestibulares. El análisis de secuenciación de exoma identificó una nueva variante de cambio de sentido en el gen de la Proteína Centromérica P (CENP-P) que segregaba en heterocigosis en todos los miembros afectados. CENP-P es parte del complejo nucleosómico distal, que dirige las subunidades CENP-A a los centrómeros, lo que permite la formación adecuada del cinetocoro y la progresión mitótica. Estudios de RNA-seq han revelado que existe expresión de CENP-P en oído interno de ratón, en mayor grado en células de soporte que ciliadas, tanto en la cóclea como en el vestíbulo. La variante candidata (CENP-P, C283*) genera un truncamiento de cinco aminoácidos al final de la proteína. El modelado in silico de esta sugiere que la mutación podría posibilitar una pérdida de interacciones electrostáticas al final de la proteína, pudiendo alterar modestamente la estabilidad. Sin embargo, el residuo modificado tiene una conservación baja al compararse en alineamiento múltiple con las secuencias proteicas de CENP-P en las especies más similares. Como conclusión, presentamos al gen codificante de la Proteína Centromérica P (CENP-P) como un posible responsable de la pérdida auditiva en frecuencias bajas. El mejor conocimiento de las variantes patogénicas en esta condición permitirá la mejora en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la misma.

Este proyecto ha sido parcialmente financiado por H2020-SC1-2019-848261 y la Fundación Suiza Schmieder-Bohrisch

EVALUACIÓN DE LA EXISTENCIA DE DOLOR OROFACIAL CRÓNICO EN MUJERES CON FIBROMIALGIA

María del Carmen Villaverde Rodríguez (1), María Correa Rodríguez (2), Antonio Casas Barragán (3), Rosa María Tapia Haro (3), María Encarnación Aguilar Ferrándiz (4)

1. Doctoranda en el programa de Biomedicina. Universidad de Granada. 2. Departamento de Enfermería. Universidad de Granada 3. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias de la Salud. Melilla 4. Departamento de Fisioterapia. Universidad de Granada. Directora de tesis.

RESUMEN: La Fibromialgia es una patología multisintomática, cuya característica principal es el dolor crónico generalizado. La etiopatogenia de la Fibromialgia es aún desconocida, aunque en las últimas investigaciones se ha relacionado el dolor crónico con el Sistema Nervioso Central, desempeñando un papel principal en el dolor musculoesquelético difuso. Otros síntomas frecuentes asociados a la Fibromialgia pueden ser, fatiga, trastornos del sueño, ansiedad, entre otros, considerando un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes. Recientes estudios han analizado y evaluado la presencia de dolor crónico orofacial en mujeres con Fibromialgia afectando a su calidad de vida. El dolor orofacial crónico se refiere a un grupo heterogéneo de condiciones clínicas y etiológicas diferentes en el área facial, los signos más frecuentes en la población con Fibromialgia es la disfunción temporomandibular. El objetivo de este trabajo es analizar el grado de dolor orofacial en un grupo de mujeres con fibromialgia en comparación con pacientes sanos. Para ello se realizó un estudio observacional-transversal de casos y controles, en el cual se reclutó a una muestra de 41 mujeres con Fibromialgia y 40 mujeres sanas sin patología. Para la evaluar el dolor orofacial y el grado se utilizaron las siguientes variables: medición de apertura de boca, calidad de vida orofacial con Craniofacial Pain and Disability Inventory (CF-PDI) y Escala Visual Analógica del dolor (EVA). Resultados: se observaron diferencias significativas entre ambos grupos para las variables de dolor orofacial EVA ($p < 0.001$), apertura de boca ($p < 0.003$) y CF-PDI ($p < 0.001$). En conclusión, las personas con fibromialgia presentan un mayor riesgo de presentar dolor orofacial en comparación con mujeres sanas, por lo que se justifica una evaluación protocolizada de estos parámetros en la población con fibromialgia. Son necesarias futuras investigaciones, que valoren el dolor orofacial en esta población, así como el impacto sobre su calidad de vida.

PÓSTERS

1. Exposición a pesticidas no persistentes y desarrollo puberal en niños y niñas de la cohorte Infancia y Medioambiente (INMA)
2. Unidad de Calidad Biológica del aire de Granada: actividad científica y reto social
3. Dieta mediterránea y riesgo de cáncer de mama: una revisión de revisiones sistemáticas y metaanálisis
4. Fenoles, compuestos perfluorados y metales en leche materna procedente de un banco de leche materna en el sur de España
5. Tendencias temporales de la incidencia, mortalidad y supervivencia del cáncer colorrectal en la provincia de Granada
6. Exposición a sustancias químicas presentes en los productos de cuidado personal y alteración de biomarcadores metabólicos en mujeres con endometriosis. Estudio EndEA
7. Mortalidad por nivel socioeconómico de los cánceres de pulmón, colon-recto y mama en España
8. Actualización de la evidencia sobre la relación entre la dieta y los cánceres más comunes del Estudio Prospectivo Europeo sobre Nutrición y Cáncer (EPIC): una revisión sistemática

EXPOSICIÓN A PESTICIDAS NO PERSISTENTES Y DESARROLLO PUBERAL EN NIÑOS Y NIÑAS DE LA COHORTE INFANCIA Y MEDIOAMBIENTE (INMA)

Francesca Castiello(1), Beatriz Suárez (2,3,4), Fernando Vela-Soria (2,3), Vicente Mustieles (2,3,4), Andrea Rodríguez-Carrillo (2,3,5), Alicia Olivas (2,3), José Gómez-Vida (1), Marieta Fernández (2,3,4,5), Nicolás Olea (2,3,4,5), Carmen Freire (2,3,4)

1. Servicio de Pediatría, Hospital Universitario San Cecilio, Granada 2. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA) 3. Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada 4. CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP) 5. Departamento de Radiología, Universidad de Granada

RESUMEN: Numerosos pesticidas no persistentes de uso actual tienen capacidad de interferir en la función hormonal, pero muy pocos estudios han investigado el posible impacto de la exposición a estos contaminantes ambientales sobre el desarrollo puberal. El objetivo de este trabajo es evaluar la asociación entre la exposición a pesticidas no persistentes y el desarrollo puberal de niños y niñas con edad entre 8 y 11 años. Para ello, se ha llevado a cabo un estudio epidemiológico transversal en el que se cuantificaron las concentraciones de metabolitos de una selección de pesticidas con potencial efecto como disruptores endocrinos (TCPy, metabolito de clorpirifós; DETP, metabolito genérico de insecticidas organofosforados; 3-PBA, metabolito genérico de insecticidas piretroides; 1-N, metabolito del insecticida carbarilo; y ETU, metabolito de fungicidas como mancozeb) en la orina de 1.539 niños y niñas que participan en el estudio de cohortes Infancia y Medio Ambiente (INMA), recogidas entre 2012 y 2019 en Asturias, Gipuzkoa, Granada, Sabadell y Valencia. Para la evaluación puberal de los niños/as se empleó la escala de Tanner (desarrollo genital en niños [G1-G5], desarrollo de las mamas en niñas [B1-B5] y crecimiento de vello púbico [PH1-PH5] en niños y niñas) realizada por un profesional sanitario y/o la Escala de Desarrollo Puberal (PDS) cumplimentada por los padres. Mediante regresión logística multivariante, se examinó la asociación entre cada metabolito individualmente y la probabilidad de estar en estadio ≥ 2 para cada hito puberal. Se exploró además el efecto modificador del índice de masa corporal (IMC) usando análisis estratificado. Los resultados muestran que, en modelos ajustados por nivel urinario de creatinina, región de procedencia, edad, altura e IMC del niño/a y educación de la madre, se observó que las niñas con concentraciones detectables de TCPy (35%) y ETU (53%) tenían mayor probabilidad de aparición de botón mamario (telarquía) (TCPy: odds ratio [OR]=1.84, intervalo de confianza [IC] 95%=0.97-3.52; ETU: OR=4.82, IC95%=2.28-10.2). En el caso de ETU, la probabilidad en niñas con peso normal era 3 veces mayor que en aquellas con sobrepeso u obesidad (OR=9.49, IC95%=2.58-34.9 vs. OR=3.42, IC95%=1.24-10.6). La detección urinaria de ETU también se asoció con mayor probabilidad de activación adrenal (adrenarquía) (OR=1.51, IC95%=0.96-2.40), especialmente en niñas con peso normal (OR=1.83, IC95%=0.94-3.54). TCPy también se asoció con adrenarquía solo en niñas con peso normal (OR=1.87, IC95%=0.93-3.78). En niños, aquellos con concentraciones detectables de TCPy (40%) y 3-PBA (34%) tenían mayor probabilidad de iniciación del desarrollo genital (gonadarquia) (OR=1.96, IC95%=1.08-3.57 y OR=2.09, IC95%=1.15-3.81, respectivamente), especialmente en los que tenían peso normal (TCPy: OR=2.18, IC95%=0.91-5.17) y sobrepeso/obesidad (3-PBA: OR=3.64, IC95%=1.15-8.79). En los niños también se observó asociación entre detección de ETU (49%) y mayor probabilidad de gonadarquia solo en aquellos con peso normal (OR=2.23, IC95%CI=0.91-5.44) y entre DETP y menor probabilidad de adrenarquía solo en aquellos con sobrepeso/obesidad (OR=0.95, IC95%=0.90-1.00 por cada aumento de una unidad logarítmica en la concentración de DETP). Estos resultados sugieren que la exposición infantil a ciertos pesticidas no persistentes podría estar asociada con adelanto en la pubertad, especialmente en niñas con peso normal. Es necesario evaluar el efecto combinado de la exposición a pesticidas -dosis bajas de múltiples residuos- sobre el desarrollo puberal de niños y niñas expuestos fundamentalmente a través de la dieta.

UNIDAD DE CALIDAD BIOLÓGICA DEL AIRE DE GRANADA: ACTIVIDAD CIENTÍFICA Y RETO SOCIAL

De Linares, C.; Cariñanos, P.; Díaz de la Guardia, C.

RESUMEN: Desde el punto de vista clínico, el polen de las plantas anemófilas y las esporas de hongos son, junto a los ácaros, los principales contaminantes biológicos del aire y su presencia está en continuo aumento. Este fenómeno está relacionado con la aparición de alergias polínicas y otras enfermedades del aparato respiratorio que, según la Organización Mundial de la Salud, se clasifican dentro de las seis enfermedades más comunes a nivel mundial. Los profesionales dedicados a la Alergología e Inmunología Clínica tienen como objetivo conseguir un mejor tratamiento de esta enfermedad y una prevención lo más eficaz posible. La Aerobiología es la disciplina científica que estudia las partículas biológicas del aire, su dispersión e impacto en el medio ambiente y organismos (Frenguelli G & Bricchi E, Aerobiología, 1998, 14:39). La metodología más extendida y estandarizada para estudiar los granos de polen y esporas de hongos en el aire se basa en técnicas palinológicas, es decir, en la identificación mediante microscopía óptica de las partículas que se capturan en la atmósfera, diferenciándolas por su morfología, tamaño y ornamentación de su superficie. Su objetivo es clasificar y cuantificar la diversidad polínica y fúngica de la atmósfera para establecer calendarios de presencia o modelos predictivos con el fin de mejorar los mecanismos de prevención de las alergias respiratorias. Granada cuenta desde el año 1992 con un centro de control aerobiológico donde se realiza el seguimiento periódico de los niveles de polen en el aire. Los más de 30 años de estudios de este grupo ha resultado en la obtención de unas de las bases de datos aerobiológicas más completas y extensas a nivel nacional, así como la consolidación de un grupo de investigación competitivo a nivel nacional e internacional. Toda esta información también está disponible para la ciudadanía con el fin de mejorar la calidad de vida de las personas que padecen alergias ya que se dispone de web (<http://aerobio2.stei.es/>) donde, semanalmente, se informa de los niveles de polen del aire y las predicciones de los niveles de polen que habrá en los próximos días. Además, se mantiene una estrecha relación con la comunidad médica, los cuales reciben información para mejorar sus métodos de diagnóstico y tratamientos de alergia. Por otro lado, colaboramos con las redes aerobiológicas nacionales e internacionales con el fin de completar una base de datos estandarizada a nivel mundial de alto interés para fines de investigación. Nuestra trayectoria en el campo de la Aerobiología y la demanda por parte de la comunidad médica, ciudadana y periodística de seguir informando sobre los niveles polínicos del aire, nos hace querer reforzar esta labor social. Para ello, ofrecemos la posibilidad de entablar puentes de colaboración para la creación de nuevas líneas de investigación, así como de información, divulgación y transferencia, que logren mejorar la calidad de vida de las personas que padecen alergias.

DIETA MEDITERRÁNEA Y RIESGO DE CÁNCER DE MAMA: UNA REVISIÓN DE REVISIONES SISTEMÁTICAS Y METAANÁLISIS

Carla González-Palacios Torres, Carmen Ortega Rico, Isabel Pérez Herrezuelo, Saturnino de Reyes Lartegui, Jesús Villegas Alcázar, María Belén Cano Pina, Rocío Barrios Rodríguez

RESUMEN: La dieta mediterránea (DM) es un patrón asociado a una disminución del riesgo de enfermedad crónica. Sin embargo, su papel en el cáncer de mama, que es una enfermedad heterogénea, aún no está claro. El objetivo de este estudio fue resumir la mayor evidencia disponible sobre esta asociación. Par ello se realizaron búsquedas de revisiones sistemáticas y metaanálisis relevantes en las bases de datos Pubmed, Web of Science y Scopus. Los criterios de selección incluyeron estudios realizados en mujeres de 18 años o más, que evaluaron la adherencia a la DM como exposición y el riesgo de cáncer de mama como resultado, y estudios escritos en inglés o español. Para evaluar la calidad de los estudios se utilizó la herramienta AMSTAR-2. Los resultados incluyeron cinco revisiones sistemáticas y seis metaanálisis. La calidad de 6 de los 11 estudios incluidos fue críticamente baja o baja. El análisis con cáncer de mama total presentó resultados con heterogeneidad moderada-alta. Todas las revisiones sistemáticas que evaluaron la asociación entre DM y riesgo de tumores RE- entre mujeres posmenopáusicas describieron una asociación inversa. No se encontró asociación para DM entre mujeres premenopáusicas. En conclusión, el efecto protector potencial del DM sobre el cáncer de mama se limitó a las mujeres posmenopáusicas y los tumores RE-. La estratificación de los casos de cáncer de mama y la unificación de criterios para evaluar la DM son aspectos necesarios para superar la presencia de heterogeneidad en los resultados y mejorar el conocimiento de este tema.

FENOLES, COMPUESTOS PERFLUORADOS Y METALES EN LECHE MATERNA PROCEDENTE DE UN BANCO DE LECHE MATERNA EN EL SUR DE ESPAÑA

L.M. Iribarne-Durán (1), F.M. Peinado(1), L. Serrano (2), P. Olmedo (3), F. Gil (3), F. Vela-Soria (1), M. Peña-Caballero (2), Sánchez M (1), M.F. Fernández (1,4,5), C. Freire (1,4), F. Artacho-Cordón (1,4,5), N. Olea (1,4,5,6).

1. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). E-18012. Granada. España. 2. Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, Hospital Universitario Virgen de las Nieves. E-18012 Granada. España. 3. Departamento de Medicina Legal, Toxicología y Antropología Física, Universidad de Granada, 18016 Granada, España. 4. CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). E- 28029. Madrid.España. 5. Departamento de Radiología y Medicina Física. Universidad de Granada E- 18016. Granada. España. 6. Unidad de Medicina Nuclear. Hospital Universitario San Cecilio. E- 18016. Granada. España

RESUMEN: La leche materna es la principal fuente de nutrición durante el primer período de vida dado que contiene nutrientes y otros componentes que son importantes para la salud y el desarrollo infantil. Los Bancos de leche materna ofrecen una alternativa a las fórmulas infantiles para la alimentación de neonatos prematuros hospitalizados en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), ya que son vulnerables y presentan la mayor probabilidad de beneficiarse de la alimentación exclusiva con leche materna. Sin embargo, la leche materna también puede ser un vehículo de exposición a contaminantes ambientales, entre las que se incluyen sustancias químicas que alteran el sistema hormonal, conocidas como disruptores endocrinos (EDCs). El objetivo de este trabajo es evaluar las concentraciones de un total de 31 EDCs, entre los que se encuentran 13 compuestos fenólicos [3 bisfenoles (BPA, BPS y BPF), 4 parabenos (PBs) (MeP, EtP, PrP y BuP), 6 benzofenonas (BPs) (BP-1, BP-2, BP-3, BP-6, BP-8, and 4-hidroxi-BP)], 11 compuestos perfluoroalquilados (PFAS) (7 compuesto de cadena larga: PFOS, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA y PFTrDA; y 4 compuesto de cadena corta: PFBU, PFHxA, PFHxS y PFHpA), 7 metales no esenciales [aluminio (Al), arsénico (As), cadmio (Cd), mercurio (Hg), litio (Li), plomo (Pb) y antimonio (Sb)], en muestras de leche materna procedentes del Banco de leche materna del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (HUVN) y explorar factores sociodemográficos, reproductivos y de estilo de vida relacionados con sus concentraciones en la leche. Para ello se llevó a cabo un estudio descriptivo en una muestra de 87 mujeres donantes del Banco de leche del HUVN entre los años 2015 y 2018. Cada mujer donó muestras de leche acumuladas, recogidas a lo largo de un máximo de 4 semanas. Se analizaron los compuestos fenólicos y PFAS mediante cromatografía HPLC-MS y los metales no esenciales mediante Q-ICP-MS. Se utilizó un cuestionario ad-hoc para recopilar información sobre las características sociodemográficas, el estilo de vida, la dieta y el uso de productos de cuidado personal (PCP) de los donantes. Se ajustaron múltiples modelos de regresión lineal y logística. Para los compuestos fenólicos, el compuesto mayormente detectado fue el MeP (90.5%; mediana [ME] \leq 0,48 ng/mL), seguido de BP-3 (75.0%; ME \leq 0.59 ng/mL), EtP (51.2%; ME \leq 0,11 ng/mL), PrP (46.4%; ME \leq 0.07 ng/mL), BPA (41.7%; ME \leq 0.14 ng/mL), BP-1 (20.2%; ME \leq 0.07 mg/L) y BuP (8.3%; ME \leq 0.07 ng/mL). Los PFAS fueron detectados en 24-100% de las muestras: PFHpA en el 100.0% (ME \leq 19.39 ng/L), PFOA en 84.1% (ME \leq 7.17 ng/L), PFNA en 70.7% (ME \leq 2.59 ng/L), PFHxA en 65.9% (ME \leq 1.58 ng/L), PFTrDA en 62.2% (ME \leq 1.69 ng/L) y el resto de PFAS en $<$ 40% de las muestras. Entre los metales, el más frecuente fue Al (96.6%; ME \leq 54.37 mg/L), seguido de As (95.4%; ME \leq 1.70 mg/L), Hg (82.8%; ME \leq 0.24 mg/L), Li (80.5%; ME \leq 0.56 mg/L), Sb (71.3%; ME \leq 0.07 mg/L), Pb (51.7%; ME \leq 0.14 mg/L) y Cd (39.1%; ME \leq 0.04 mg/L). Una de cada 4 donantes tenía concentraciones detectables de, al menos, 4 fenoles y cerca de 1 de cada 3 tenía hasta 7 PFAS y 4 metales detectados en su leche. Los resultados obtenidos sugieren que varios factores del estilo de vida influyen en las concentraciones de los EDCs analizados, destacando el uso de PCP. Estos hallazgos revelan la presencia generalizada de EDCs en muestras de leche materna. La leche del Banco puede ser una vía importante de exposición a EDCs para los niños prematuros hospitalizados en las UCIN. Se hacen necesarias medidas preventivas para garantizar tanto la calidad como la seguridad biológica y química de la leche materna de los bancos de leche y el establecimiento de recomendaciones que disminuyan la exposición ambiental de las donantes.

TENDENCIAS TEMPORALES DE LA INCIDENCIA, MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA DEL CÁNCER COLORRECTAL EN LA PROVINCIA DE GRANADA*Óscar Mendoza García, Daniel Redondo Sánchez, Daysis Yoe-Ling Chang-Chan, Miguel Rodríguez Barranco, Javier Casquero Sánchez, María José Sánchez Pérez*

RESUMEN: El cáncer de colon-recto (CCR) fue la segunda causa de muerte por cáncer tanto en hombres como en mujeres en 2019 en la provincia de Granada, tras el cáncer de pulmón y de mama, respectivamente. El objetivo de este estudio es analizar las tendencias temporales de la incidencia, mortalidad y supervivencia de CCR en Granada en el periodo 1985-2017, según sexo. Se diseñó un estudio transversal de base poblacional con los datos de incidencia en la provincia de Granada del Registro de Cáncer de Andalucía y de mortalidad del Sistema de Información Sanitaria del Ministerio de Sanidad. Se incluyeron todos los casos incidentes de cáncer de colon (C18 según ICD-10) y recto (C19 y C20) diagnosticados durante el periodo 1985-2017 y residentes en la provincia de Granada, con seguimiento del estado vital hasta el 31 de diciembre de 2019; y todas las defunciones por cáncer de colon y recto durante el periodo 1985-2017 residentes en la provincia de Granada. Se aplicaron modelos de regresión log-lineal (Join Point) sobre las tasas estandarizadas por edad (ASR-E población europea estandarizada de 1976) para estimar el porcentaje de cambio anual (PCA), intervalo de confianza (IC) al 95% y puntos de inflexión en las tendencias. Se calculó la supervivencia neta mediante el método de Pohar-Perme para estimar la probabilidad de sobrevivir atribuible a la enfermedad. Se utilizó el software estadístico JoinPoint 4.4 y Stata v17. Durante el periodo 1985-2017 se diagnosticaron 12.725 casos de CCR en la provincia de Granada (57,1% en hombres), de los que 8.280 correspondieron a colon y 4.445 a recto. Ambas localizaciones representaron el 12,2% del cáncer total excepto piel no melanoma en ese periodo. Las tendencias de incidencia de CCR aumentaron tanto en hombres (PCA: +3,23%, $p < 0,05$) como en mujeres (PCA: +2,07%, $p < 0,05$) durante el periodo de estudio. Para ambos sexos se observan distintos incrementos: el primero de ellos más pronunciado durante el periodo 1987-2003, con un PCA de +4,40% ($p < 0,05$), sucedido de un incremento de +0,86% en 2003-2017. El patrón de la tendencia fue similar al considerar ambas localizaciones por separado. Las defunciones por CCR entre 1985 y 2017 ascendieron a 6.074 (55,4% en hombres), representando el 11,4% de los fallecimientos totales por cáncer, excepto piel no melanoma. La mortalidad por cáncer de colon aumentó para ambos sexos (PCA: +2,08%, $p < 0,05$), tanto en hombres (PCA: +2,59%, $p < 0,05$) como en mujeres (PCA: +1,50%, $p < 0,05$), mientras que la mortalidad por cáncer de recto aumentó en hombres (PCA: +1,23%, $p < 0,05$), pero disminuyó en mujeres (PCA: -1,44%, $p < 0,05$) durante el periodo 1985-2017. La supervivencia neta estandarizada por edad (ASNS) a los 5 años desde el diagnóstico ha experimentado un incremento gradual, pasando del 44,1% registrada en el periodo 1985-2002 hasta el 59,3% en el periodo 2013-2017, tendencia que fue similar en hombres y en mujeres. Las tasas de supervivencia en el último periodo fueron muy parecidas para el cáncer de colon y de recto, aunque con cifras ligeramente inferiores en este último (55,7% para recto y 57,9% para colon a los 5 años del diagnóstico). El CCR fue el cáncer más frecuente en Granada en el periodo 1985-2017, y el segundo con más defunciones, después del cáncer de pulmón, si se exceptúa el cáncer de piel no melanoma. Las tendencias de incidencia y mortalidad aumentaron en ambos sexos, salvo la mortalidad por cáncer de recto en mujeres. Más de la mitad de las personas diagnosticadas de un cáncer colorrectal sobrevive más de 5 años desde el diagnóstico, con resultados similares para ambos sexos. Se hace preciso disminuir las tasas de incidencia de esta enfermedad, promoviendo hábitos saludables en los estilos de vida y dieta entre la población, así como la detección precoz de estos cánceres para aumentar la probabilidad de supervivencia de los pacientes diagnosticados, a pesar de la mejora en el pronóstico experimentada en las últimas décadas.

EXPOSICIÓN A SUSTANCIAS QUÍMICAS PRESENTES EN LOS PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL Y ALTERACIÓN DE BIOMARCADORES METABÓLICOS EN MUJERES CON ENDOMETRIOSIS. ESTUDIO ENDEA

F.M. Peinado (1), L.M. Iribarne-Durán (1), Díaz C (2), J.M. Molina-Molina (1,3), I Reina (1,4), E Salamanca (1,3,4), Pérez del Palacio J (2), Vicente F (2), O. Ocón-Hernández (1,5), F. Artacho-Cordón (1,3,4)

1. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). 2. Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía. 3. CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). 4. Departamento de Radiología y Medicina Física. Universidad de Granada. 5. Unidad de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario San Cecilio.

RESUMEN: Resultados recientes de nuestro grupo, en línea con estudios previos, han revelado la relación entre la exposición a sustancias químicas con actividad hormonal [denominados disruptores endocrinos (DEs)] presentes en los productos de cuidado personal (PCPs) [como son el bisfenol A (BPA), los parabenos (PBs) y las benzofenonas (BPs)] y el riesgo de desarrollo de endometriosis. En concreto, se ha demostrado que BPA, metilparaben (MeP) y benzofenonas 1 y 3 (BP-1 y BP-3) se asocian con un mayor riesgo de endometriosis (Peinado et al., 2020; Peinado et al., 2021). Igualmente, análisis de metabolómica realizados en varios estudios han demostrado la alteración del perfil metabolómico en mujeres con endometriosis en comparación con controles sanos. Sin embargo, no existe evidencia sobre el impacto que tiene la exposición a estos DEs en las alteraciones en el perfil metabólico observadas en mujeres con endometriosis. El objetivo de este trabajo es identificar los niveles de metabolitos alterados en el suero de mujeres con estadio I-II y III-IV de endometriosis y explorar la relación entre éstos y los niveles de exposición química individual a DEs [bisfenoles (BPA, BPS y BPF), PBs (MeP, EtP, PrP y BuP) y BPs (BP-1, BP-3, 4-OH-BP)]. Para ello se realizó un estudio transversal que incluyó un total de 32 casos de endometriosis (21 en estadio I-II y 11 en estadio III-IV) reclutados entre los años 2018-2020 en los servicios de Ginecología y Obstetricia de los Hospitales Universitarios San Cecilio y Virgen de las Nieves de Granada. Para el análisis de los DEs se utilizó GS-MS/MS, mientras que el análisis del perfil metabólico se llevó a cabo utilizando un espectrómetro de masas SCIEX TripleTOF 5600 en modo ESI positivo. La asociación entre grado de endometriosis, biomarcadores metabólicos y exposición a DEs se estudió mediante test de correlación de Spearman y modelos de regresión lineal. La significancia estadística se estableció en $p \leq 0.05$. Se cuantificaron un total de 526 metabolitos, de los cuales 6 se asociaron con mayor grado de endometriosis (teofilina, cafeína, triptofanamida, amidopirina y fosfocolina), metabolitos implicados en diversos procesos metabólicos como la síntesis de fosfolípidos y en procesos de vasodilatación, entre otros. Estudios de correlación de Spearman y análisis de regresión lineal demostraron que los niveles de los biomarcadores metabólicos triptofanamida y amidopirina se asociaban positivamente con los de BP-3, los niveles del biomarcador fosfocolina con los niveles de 4-OH-BP, y los de fosfocolina con los de BPA, BPS y Σ bisfenoles. En conclusión, los resultados muestran que las mujeres diagnosticadas con endometriosis con niveles elevados de exposición a sustancias presentes en productos cosméticos, mostraron una mayor asociación con ciertos metabolitos potencialmente involucrados en la progresión de la enfermedad, tales como la triptofanamida, amidopirina y fosfocolina.

MORTALIDAD POR NIVEL SOCIOECONÓMICO DE LOS CÁNCERES DE PULMÓN, COLON-RECTO Y MAMA EN ESPAÑA

Daniel Redondo Sánchez, Miguel Rodríguez Barranco, Pablo Fernández Navarro, Miguel Ángel Luque Fernández, Olivier Nuñez, María José Sánchez Pérez.

RESUMEN: Varios estudios ecológicos han revelado la existencia en España de desigualdades socioeconómicas en la mortalidad por todas las causas. Sin embargo, poco se sabe sobre las diferencias socioeconómicas en la mortalidad por cáncer. El objetivo de este trabajo es evaluar la relación entre el nivel socioeconómico y la mortalidad por cáncer de pulmón, colon-recto y mama en España. Para ello se incluyeron todas las defunciones de cáncer de colon-recto, pulmón y mama durante el periodo 2010-2014 en España. A cada defunción se le asignó el índice de privación de la sección censal de residencia en el momento del fallecimiento. Los datos de mortalidad procedían del Instituto Nacional de Estadística, y el índice de privación fue creado por la Sociedad Española de Epidemiología. Además, para cada localización anatómica del cáncer y quintil de privación se calcularon las tasas brutas y las tasas estandarizadas por edad, considerando la población estándar europea de 2013 (ASR-E), para permitir comparaciones entre otros territorios o periodos de tiempo. En total se analizaron 211.357 defunciones, distribuidas en 44,7 defunciones por cáncer de pulmón por cada 100.000 habitantes, 32,4 por cáncer de colon-recto y 26,1 por cáncer de mama. Los fallecimientos por cáncer de pulmón y colon-recto fueron más frecuentes en hombres que en mujeres (razón de ASR-E: 5,9 y 2,1 respectivamente). Las mujeres de niveles socioeconómicos más altos tuvieron una mayor mortalidad de cáncer de pulmón y cáncer de mama, comparadas con las mujeres de niveles socioeconómicos más bajos, con un gradiente claro entre los distintos quintiles de privación (ASR-E por quintiles de privación: 19,7 – 16,3 – 15,1 – 13,5 – 12,2 en cáncer de pulmón; 26,7 – 24,6 – 24,2 – 23,9 – 23,8 en cáncer de mama). El patrón se revierte para cáncer de pulmón en hombres, donde la mayor mortalidad se da en hombres de niveles socioeconómicos más bajos (ASR-E en Q5: 99,8 vs ASR-E en Q1: 83,7). Para el cáncer de colon-recto, el gradiente de mortalidad por nivel socioeconómico no está claro en ambos sexos, aunque en los hombres parece observarse una mayor mortalidad en los quintiles centrales de la privación. En conclusión, si bien la existencia de desigualdades socioeconómicas en la mortalidad por cáncer no refleja necesariamente desigualdades en la incidencia, la existencia de un registro exhaustivo de la mortalidad a nivel nacional permite extraer conclusiones relevantes sobre el impacto del nivel socioeconómico en la carga del cáncer en España. Un seguimiento periódico de los indicadores epidemiológicos en cáncer por nivel socioeconómico puede permitir la evaluación de políticas de salud pública que intenten reducir las desigualdades existentes.

Financiación: High resolution study of social inequalities in cancer (HiReSIC), Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) (PROYE20023SÁNC). Subprograma de Vigilancia Epidemiológica del Cáncer (VICA), del CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII): PI18/01593 EU/FEDER.

ACTUALIZACIÓN DE LA EVIDENCIA SOBRE LA RELACIÓN ENTRE LA DIETA Y LOS CÁNCERES MÁS COMUNES DEL ESTUDIO PROSPECTIVO EUROPEO SOBRE NUTRICIÓN Y CÁNCER (EPIC): UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA*Esther Ubago-Guisado, Miguel Rodríguez-Barranco, Ana Ching-López, Dafina Petrova, Esther Molina-Montes, María Trinidad Soria-Florido, María José Sánchez.*

RESUMEN: Se estima que en 2020 a nivel mundial se produjeron 18,1 millones de nuevos casos de cáncer (excluyendo el cáncer de piel no melanoma) [1], tan sólo en Europa los nuevos casos de cáncer ascendieron a 2,7 millones [2]. En general, la incidencia de cáncer está creciendo rápidamente, convirtiéndose en uno de los problemas de salud pública más importantes en todo el mundo. Solo el 5-10% de los cánceres pueden ser atribuidos a predisposición genética, mientras que los factores que originan el proceso de la enfermedad son principalmente atribuibles a factores ambientales y de estilo de vida [3]. En relación con los factores modificables del estilo de vida, existe una evidencia clara de que la nutrición, la dieta y otros factores relacionados como el consumo de alcohol, la actividad física o el sobrepeso tienen un impacto importante en el riesgo de cáncer, incluso más que el tabaquismo, y que los cambios de comportamiento adecuados pueden reducir significativamente el riesgo de padecer un cáncer [4]. Sin embargo, a pesar de varias décadas de investigación epidemiológica, la evidencia científica del efecto de muchos alimentos y nutrientes específicos sobre el cáncer sigue siendo inconsistente o insuficiente. El estudio "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition" (EPIC), es uno de los estudios de cohortes más grandes del mundo, y fue diseñado para investigar la relación entre la dieta y el cáncer, y también su relación con otras enfermedades crónicas. Se trata de un estudio prospectivo multicéntrico realizado en 23 centros de 10 países europeos, con 519.978 participantes (366.521 mujeres y 153.457 hombres), la mayoría con edades comprendidas entre los 35 y los 70 años, y reclutados entre 1992 y 1998. La dieta de los 12 meses anteriores se evaluó en el momento del reclutamiento a través de cuestionarios validados específicos de cada país. El objetivo de este trabajo fue revisar los hallazgos de EPIC sobre la relación entre la dieta y la incidencia de los cuatro cánceres más frecuentes en la población europea: cáncer colorrectal, de mama, de pulmón y de próstata. Se desarrolló una revisión sistemática siguiendo la guía de PRISMA, con una búsqueda exhaustiva en MEDLINE (a través de PubMed), Scopus y Web of Science, y se identificaron 105 estudios basados en la cohorte EPIC publicados hasta marzo de 2021. La evaluación la calidad metodológica de los estudios se realizó mediante la "Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Tool for Systematic Reviews". El consumo de frutas y verduras tuvo un efecto protector contra el cáncer colorrectal, de mama y de pulmón, mientras que solo la fruta tuvo un efecto protector contra el cáncer de próstata. Un mayor consumo de pescado y un menor consumo de carnes rojas y procesadas se relacionaron con un menor riesgo de cáncer colorrectal; y un mayor consumo de pescados grasos con menor riesgo de cáncer de mama. Se descubrió que la ingesta de calcio y yogur protege contra el cáncer colorrectal y de próstata. El consumo de alcohol aumentó el riesgo de cáncer colorrectal y de mama. Finalmente, la adherencia a la dieta mediterránea resultó ser un factor protector del cáncer colorrectal y de mama. El estudio EPIC, de acuerdo con la evidencia más reciente de las principales autoridades en la prevención del cáncer, ha dado como resultado numerosas publicaciones de alta calidad sobre el papel de la dieta en la prevención del cáncer que ayudan a la actualización de recomendaciones, políticas y estrategias de salud pública.

[1] Sung, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021, 71, 209–249, doi:10.3322/caac.21660. [2] Randi, G. et al. Estimated Cancer Incidence and Mortality in Europe for the Year 2020. *Eur J. Public Health* 2020, 30, 5, doi:10.1093/eurpub/ckaa166.1348. [3] Anand, P. et al. Cancer Is a Preventable Disease That Requires Major Lifestyle Changes. *Pharm Res.* 2008, 25, 2097–2116.

PÓSTERS

1. Los mastocitos de tejido adiposo reducen la expresión de marcadores de supervivencia y activación en pacientes con diabetes tipo 2
2. En pacientes con obesidad, el número de mastocitos en tejido adiposo es significativamente menor en sujetos con diabetes tipo 2
3. Un polimorfismo de Dickopf1 como marcador de riesgo en diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular
4. Determinación de microRNAs circulantes y marcadores del estrés oxidativo como predictores de daño vascular de la Diabetes Mellitus Tipo II en pacientes adultos del estado de Jalisco, México

LOS MASTOCITOS DE TEJIDO ADIPOSO REDUCEN LA EXPRESIÓN DE MARCADORES DE SUPERVIVENCIA Y ACTIVACIÓN EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2

David Lopez-Perez, Anaïs Redruello-Romero, Jesús García-Rubio, Carlos Arana, Isabel Ruiz-Palmero, Sonia Morales-Santana, Marta López-Llaría, M. Luisa Navarro-Rodriguez, Luis A. García-Escudero, Francisco Tamayo, Javier Salmeron, Julio Galvez, Josefa Leon and Ángel Carazo

RESUMEN: El paradigma de los mastocitos en la diabetes tipo 2 (T2D) está cambiando. Aunque al principio se las consideró células inflamatorias deletéreas, ahora parecen ser actores importantes que impulsan la homeostasis del tejido adiposo. Aquí hemos empleado un enfoque basado en citometría de flujo para medir la expresión superficial de 4 proteínas (CD45, CD117, CD203c y FcεRI) en mastocitos de tejido adiposo blanco omental (o-WAT) y subcutáneo (s-WAT) en un cohorte de 96 pacientes con obesidad mórbida. La cohorte se dividió en tres grupos: sin T2D, pre-T2D y T2D. Es de destacar que los pacientes con T2D tienen una condición leve ($HbA1c < 7\%$). En o-WAT, los mastocitos de pacientes con T2D tienen una disminución en la expresión superficial de CD45 ($p = 0,0013$), CD117 ($p = 0,0066$), CD203c ($p = 0,0025$) y FcεRI ($p = 0,043$). Además, en s-WAT, la disminución se observó solo en CD117 ($p = 0,046$). Estos resultados indican que la T2D afecta más a los mastocitos en o-WAT que en s-WAT. La disminución de estas cuatro proteínas tiene efectos graves sobre la función de los mastocitos. CD117 es fundamental para la supervivencia de los mastocitos, mientras que CD45 y FcεRI son importantes para la activación de los mastocitos. Además, CD203c solo está presente en la superficie celular después de la liberación de gránulos. Tomando en conjunto estas observaciones, sugerimos que los mastocitos en o-WAT de pacientes con T2D tienen una menor supervivencia, capacidad de activación y función secretora.

EN PACIENTES CON OBESIDAD, EL NÚMERO DE MASTOCITOS EN TEJIDO ADIPOSO ES SIGNIFICATIVAMENTE MENOR EN SUJETOS CON DIABETES TIPO 2

M. Luisa Navarro-Rodriguez, David Lopez-Perez, Anaïs Redruello-Romero, Jesús Garcia-Rubio, Carlos Arana, Luis A. Garcia-Escudero, Francisco Tamayo, Jose D. Puentes-Pardo, Sara Moreno-SanJuan, Javier Salmeron, Armando Blanco, Julio Galvez, Josefa Leon, Ángel Carazo

RESUMEN: La diabetes tipo 2 (DT2) es un problema de salud mundial en aumento causado principalmente por la obesidad y un estilo de vida sedentario. En individuos sanos, el tejido adiposo blanco (WAT) tiene un papel homeostático relevante en el metabolismo de la glucosa, el almacenamiento de energía y la señalización endocrina. Los mastocitos contribuyen a estas funciones promoviendo la angiogénesis y adipogénesis WAT. En los pacientes con DM2, la inflamación afecta drásticamente el funcionamiento del WAT, lo que da como resultado el reclutamiento de varios leucocitos, incluidos los monocitos, que aumentan esta inflamación. En consecuencia, la población de macrófagos aumenta a medida que aumenta la inflamación WAT durante el empeoramiento del estado de la diabetes tipo 2. Dado que los progenitores de mastocitos no pueden llegar a WAT, la cantidad de mastocitos de WAT depende de cómo el nuevo microambiente afecta a los mastocitos progenitores y diferenciados. Aquí, empleamos un enfoque basado en citometría de flujo para analizar el número de mastocitos de tejido adiposo blanco omental (o-WAT) y tejido adiposo blanco subcutáneo (s-WAT) en una cohorte de 100 pacientes con obesidad. Además, medimos el número de progenitores de mastocitos en una subcohorte de 15 pacientes. La cohorte se dividió en tres grupos: sin DT2, pre-DT2 y DT2. Es importante destacar que los pacientes con DM2 tienen una afección leve ($HbA1c < 7\%$). El número de mastocitos y progenitores de mastocitos fue menor en pacientes con T2D tanto en o-WAT como en s-WAT en comparación con los sujetos de los grupos pre-T2D y sin T2D. En el caso de los mastocitos en o-WAT, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos sin DM2 y DM2 ($p = 0,0031$), junto con los grupos pre-DM2 y DM2 ($p = 0,0097$). Sin embargo, en s-WAT, las diferencias son solo entre los grupos sin DT2 y DT2 ($p = 0,047$). Estas diferencias se han obtenido con pacientes con DM2 leve. Por lo tanto, pequeños cambios en el estado de la T2D tienen un gran impacto en la cantidad de mastocitos en WAT, especialmente en o-WAT. Debido a la importancia de los mastocitos en la fisiología de WAT, su disminución puede reducir la capacidad de WAT, especialmente o-WAT, para almacenar lípidos y causar muertes de células hipóxicas que desencadenarán la inflamación.

UN POLIMORFISMO DE DICKOPFF 1 COMO MARCADOR DE RIESGO EN DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Isabel Ruiz-Palmero, Marta López-LLarúa, Anaïs Redruello-Romero, David López-Pérez, Amalia Pérez-Jiménez, Eva E. Rufino-Palomares, Juan de Dios Alché, María Morell, Josefa León, Jose Carlos Jimenez-López, Lara Bossini-Castillo, Ángel Carazo, Sonia Morales-Santana

RESUMEN: Debido al incremento de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) en la población, así como al mayor riesgo de sufrir Enfermedad Cardiovascular (ECV) en pacientes con DM2, existe un creciente interés por identificar marcadores genéticos para desarrollar estrategias de cribado genético. La ECV en la DM2, tiene graves consecuencias en la morbilidad y la mortalidad de los individuos afectados, por lo que resultaría muy interesante encontrar marcadores genéticos que sean comunes en ambas enfermedades y que puedan predecir si un paciente con DM2 será susceptible a desarrollar ECV en el futuro. En este contexto, nuestro laboratorio está muy interesado en el estudio del gen Dickkopf-1 (DKK1), cuya expresión se encuentra alterada en pacientes DM2 y es un potente inhibidor de la vía de señalización de WNT. La activación de esta ruta, es fundamental en el desarrollo embrionario del páncreas, la secreción de insulina, así como la regulación de la proliferación y supervivencia de las células beta-pancreáticas. Estudios previos en nuestro laboratorio, mostraron que los pacientes con DM2 y DM2+ECV, presentan mayores niveles séricos de la proteína DKK1 (Antonia García-Martín et al. 2014). Con estos resultados, nuestro objetivo se centró en evaluar una asociación del polimorfismo rs1569198 de DKK1 de un solo nucleótido (SNP) en individuos sanos y pacientes DM2 y DM2+ECV. Para ello, se realizó un estudio transversal con una población española compuesta por 894 individuos, de los cuales 298 fueron controles y 596 pacientes con DM2. De esos 596 individuos con DM2, 223 padecían ECV y 373 no presentaron ECV. La población fue genotipada para el SNP rs1569198 de DKK1 mediante la tecnología de IDT rhAmp™ SNP Genotyping system. El análisis de regresión logística binaria, reveló que el SNP de DKK1 rs1569198, sigue un modelo de herencia recesivo en pacientes con DM2 y con DM2+ECV tras ajustar por edad, sexo e índice de masa corporal (IMC). En pacientes DM2, se obtuvo un OR de 1.548 (95% CI 1.010-2,372), $p=0.007$ y en pacientes con DM2+ECV se obtuvo un OR de 2.104 (95% CI 1.095-4,043), $p=0.026$. A continuación, el análisis de regresión lineal, mostró que en pacientes con DM2+ECV, existe una asociación positiva entre tener la mutación rs1569198 y presentar mayores niveles séricos de HbA1c con un OR de 0.221 (95% CI 0.112-1.789), $p=0.001$ tras ajustar por los factores de riesgo edad, sexo, IMC y ritmo cardíaco. Con estos resultados preliminares, observamos que el polimorfismo rs1569198 de DKK1 estaría asociado con una mayor predisposición a padecer DM2, así como ECV en individuos con DM2, por lo que este SNP podría ser un marcador de diagnóstico genético para ambas enfermedades.

Este estudio ha sido financiado a través del Proyecto de la Consejería de Salud y familias de la Junta de Andalucía. Proyecto ref: PI-0450-2019.

DETERMINACIÓN DE MICRORNAS CIRCULANTES Y MARCADORES DEL ESTRÉS OXIDATIVO COMO PREDICTORES DE DAÑO VASCULAR DE LA DIABETES MELLITUS TIPO II EN PACIENTES ADULTOS DEL ESTADO DE JALISCO, MÉXICO

Arailym Yessenbekova (1), Gabriela López- Armas (2), Rocío González-Castañeda (3), Kevin Arellano-Arteaga (3,4), Ana Guerra-Librero (5,6), Nurzhanat Ablaihanova (1), Germaine Escames (5,6,8), Darío Acuña-Castroviejo (5,6,8), Iryna Rusanova (5,7,8)

1. Al-Farabi Kazakh National University, Kazajistan 2. Centro de Enseñanza Técnica Industrial, plantel Colomos. Guadalajara. México 3. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara, México 4. Hospital Civil Juan I Menchaca, Universidad de Guadalajara, México 5. CIBERfes, iberGranada, Granada, Spain 6. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada 7. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada 8. Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada

RESUMEN: A pesar de que Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) se ha convertido en un grave problema para la salud pública debido a su creciente prevalencia a nivel mundial, poco se sabe sobre los marcadores circulantes que podrán ser utilizados como predictores de daño vascular para la búsqueda de nuevos tratamientos. El objetivo de este estudio es analizar los microRNAs circulantes c-miR-21 y c-miR-126, así como marcadores de estrés oxidativo (catalasa, productos avanzados de oxidación de las proteínas, AOPP), parámetros bioquímicos, y presencia de complicaciones cardiovasculares (CCVs) en pacientes que llevan al menos 5 años de evolución desde su diagnóstico. Se utilizaron 84 muestras de sangre de pacientes mayores de 40 años del Hospital Civil de Guadalajara, México (diagnóstico basado en los criterios de ADA, estudio aprobado por el Comité de Bioética de la UGR y del Hospital Civil): 29 personas del grupo control (GC), 22 diabéticos sin complicaciones CCVs (GD), 23 pacientes DMT2 con CCVs (GDC). La actividad de la catalasa y los niveles de AOPP se midieron usando método espectrofotométrico, los datos bioquímicos y antropométricos fueron medidos en Hospital Civil Juan I Menchaca. La expresión de c-miRs se realizó en 46 muestras con la técnica de RT-qPCR utilizando TaqMan Advanced miRNA assays. Con el programa estadístico SPSS, se determinó que en pacientes diabéticos hay un aumento de expresión de miR-21 llegando ser significativo entre GC y GD (97,92+-12,37 y 151,13+-56,17, respectivamente, p menor 0,05), y entre GC y GDC (97,92+-12,37 y 172,30+-75,55, p menor 0,005). A cambio, el miR-126, uno de los más abundantes en células endoteliales, disminuye su expresión en GD y GDC vs. GC (75,08+-42,56 y 68,97+-11,8 vs. 98,45+-2,53, p menor 0,005 en ambos casos). Además, se detectó un aumento significativo de la actividad de catalasa y de los niveles de AOPP en pacientes diabéticos, comparando con el grupo control. El análisis de Spearman reveló una correlación positiva entre la expresión de miR-21 con glucosa ($r=0,423$, $p=0,004$), y con HbA1c ($r=0,445$, $p=0,002$), mientras que la expresión de miR-126 presentó una correlación negativa con glucosa ($r=-0,418$, $p=0,005$), con HbA1c ($r=-0,422$, $p=0,005$), y con perímetro de la cintura ($r=-0,332$, $p=0,029$). AOPP presentó una correlación positiva con: HOMA-IR, glucosa, HbA1c, TG e insulina. El análisis con las curvas ROC reveló que ninguno de los marcadores estudiados hasta el momento tiene valor predictivo de la aparición de CCVs, posiblemente debido a que hacen falta más casos, sin embargo, se detectó que la expresión de miR-21 tiene un valor predictivo alto regular para la diabetes, y este se asemeja al de la HbA1c (AUC=0,685 y 0,738, respectivamente), y que el uso de HbA1c y de miR-21 tiene una alta especificidad para ser marcadores de diabetes. Tomando en cuenta que miR-21 tiene un efecto proinflamatorio que resulta de su capacidad de promover la activación de la vía de NF- κ B y NLRP3, y participa en modulación de las vías antioxidantes y homeostasis de ROS [1]; y así como el miR-126 está relacionado con la regulación del receptor de insulina en tejido adiposo y con el mantenimiento de la integridad vascular y la angiogenesis [2]; nuestros resultados preliminares justifican que estos c-miRs pueden ser importantes para evaluar el desarrollo de la enfermedad, junto con los marcadores tradicionales [3].

[1] La Sala, et al. *Cardiovasc. Diabetol.* 2019, 18, 1-12. [2] Chistiakov, D.A.; et al. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016. [3] Grieco, G.E. et al., *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20.

Estudio realizado parcialmente con fondos del Programa de "Acciones Especiales" (2a resolución) del Plan Propio de Investigación y Transferencia de la UGR, correspondiente al año 2019.

Póster

SESIÓN 13.

Enfermedades respiratorias y cardiovasculares

Día 3

11 febrero 2022

[Volver menú SESIONES](#) >>

PÓSTERS

1. Expresión del inflammasoma AIM2 en placas de ateroma humanas

EXPRESIÓN DEL INFLAMASOMA AIM2 EN PLACAS DE ATEROMA HUMANAS

Natividad Martín-Morales, Celia Juárez-Calvillo, Darío Abril, Sarmad Muayad Rasheed Al-Bakri, Saray Montalvo-Acosta, Miguel Padial-Molina, Francisco J O'Valle.

RESUMEN: La aterosclerosis es considerada una enfermedad multifactorial inflamatoria crónica de la capa íntima arterial, responsable de patologías cardíacas, cerebrales y de la enfermedad vascular periférica (EVP). El inflammasoma es un complejo multiproteico relacionado con la respuesta inmune inespecífica y la activación del inflammasoma NLRP3 o de sus componentes ha sido demostrada en esta patología. El objetivo del trabajo ha sido identificar por técnicas inmunohistoquímicas y moleculares la expresión de inflammasoma en placas de ateroma. Para ello se analizaron un total de 191 muestras arteriales con distintos grados de intensidad de placa de ateroma, donde 81 muestra procedía de pacientes con EVP y 110 sin evidencias de enfermedad vascular periférica (NREV) fijadas en formalina tamponada al 10% e incluidas en parafina y así como criopreservadas. Se valoraron datos clínicos; morfológicos, mediante tinciones de H&E, Tricómico de Masson, Pentacrómico de Movat, Rojo Sirio y Sudan IV; El estudio morfométrico fue realizado a través del programa ImageJ; el estudio inmunohistoquímico con la valoración de AIM2, NLRP3, CD68 y actina de músculo liso (AML) y por último la evaluación de los componentes del inflammasoma mediante RT-qPCR. Los resultados muestran que los pacientes con EVP presentan placas de ateromas más avanzadas y vulnerables. El espesor máximo y el área de la placa de ateroma fue significativamente más grande en la EVP. El número de monocitos/macrófagos (CD68+) (166.1 ± 125.5 vs. 51.1 ± 34.2 cels./mm²) y células musculares lisas (AML+) (798.6 ± 356.5 vs. 514.3 ± 314.1 cels./mm²) en las placas fue superior de manera estadísticamente significativa en el grupo NREV frente al grupo EVP. La expresión inmunohistoquímica de AIM2 (283.2 ± 193.9 vs. 207.2 ± 130.2 cels./mm²) y NLRP3 (34.2 ± 31.4 vs. 17.1 ± 36.8) componentes del inflammasoma fue también superior de manera estadísticamente significativa en el grupo NREV frente al grupo EVP, lo que se correlaciona con la menor presencia de células en las placas de ateroma en la EVP. Los datos preliminares obtenidos por RT-qPCR confirman la expresión en las placas de inflammasoma AIM2 y NLRP3 y de IL-1 β y CASPASA-1. En conclusión, se han demostrado diferencias morfológicas, morfométricas e inmunohistoquímicas entre las placas de ateroma de la EVP y la NREV. Igualmente se ha detectado por primera vez en muestras humanas la expresión del inflammasoma AIM2 mediante técnicas de inmunohistoquímica y de RT-qPCR en las placas de ateroma lo que sugiere un papel activo junto a NLRP3 en la patogenia de la aterosclerosis.

PÓSTERS

1. Caracterización y banqueo de células madre pluripotentes inducidas derivadas de células de pacientes de diferentes patologías, depositadas en el Banco Nacional de Líneas Celulares (BNLC), destinadas a investigación biomédica
2. El Registro de Donantes de Muestras para investigación biomédica, una herramienta para que los andaluces contribuyan a los avances biomédicos
3. Servicio de Microscopía Confocal y Electrónica de Transmisión de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC)
4. Equipamiento y servicios de la plataforma de proteómica del ibs.GRANADA
5. Creación de una nueva cartera de servicio en la Unidad de Citometría del ibs.GRANADA

CARACTERIZACIÓN Y BANQUEO DE CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES INDUCIDAS DERIVADAS DE CÉLULAS DE PACIENTES DE DIFERENTES PATOLOGÍAS, DEPOSITADAS EN EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (BNLC), DESTINADAS A INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Purificación Catalina, Rocío Aguilar-Quesada, José A Carrillo, Gertrudis Ligeró, Paula Aguilar, Juan David Rejón, Gema Lucena, Antonio Campos.

Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

RESUMEN: El Banco Nacional de Líneas Celulares (BNLC) es una estructura en red adscrita a la Subdirección General de Investigación en Terapia Celular y Medicina Regenerativa del Instituto de Salud Carlos III que tiene como objetivo garantizar en todo el territorio nacional la disponibilidad de líneas de células madre humanas tanto de origen embrionario, (hESCs) como reprogramadas (hiPSCs), para investigación biomédica. El BNLC lo forman varios nodos coordinados por uno central (Orden SCO/393/2006). Actualmente estos nodos se encuentran en Barcelona en el Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge, (IDIBELL), Valencia en el Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF) y en Granada (Nodo Central) en el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, (Biobanco SSPA). El BNLC actúa de acuerdo con los principios éticos recogidos en los convenios internacionales en materia de biomedicina y derechos humanos de los que España es parte y de acuerdo con los principios de objetividad, colaboración, integración y solidaridad. Se encarga de la elaboración, caracterización, depósito, conservación y gestión de las líneas de Células Madre Pluripotentes humanas (hPSCs) según la ORDEN SCO/393/2006 y la prioridad del BNLC, es promover la calidad y seguridad de los procedimientos sobre los que ejerza su competencia. El BNLC, por lo tanto, garantiza que se haya llevado a cabo la caracterización completa de las hPSCs depositadas, lo que implica la realización de diferentes test como: test de pluripotencia utilizando diferentes tecnologías, diferenciación in vitro e in vivo de estas células, análisis de micoplasma, huella genética por análisis de microsatélites (STR). Además de estas técnicas de caracterización, se evalúa mediante análisis cromosómicos y genéticos el estatus genético de las hPSCs, ya que hay evidencias científicas suficientes para afirmar que las células pluripotentes tanto de origen embrionario como reprogramadas pueden sufrir alteraciones cromosómicas y genéticas a lo largo del proceso de generación, expansión y mantenimiento. Es por ello que la detección mediante citogenética convencional a lo largo del proceso sigue siendo el gold standard para la detección de alteraciones cromosómicas, e imprescindible para el depósito de estas líneas en el BNLC, pero además, se están implementando técnicas de mayor resolución como el análisis por qPCR de alteraciones frecuentes, CGH arrays e incluso secuenciación, para el análisis más exhaustivo de estas alteraciones. A través del BNLC se puede acceder a iPSCs completamente caracterizadas derivadas de pacientes con alteraciones de diferente naturaleza depositadas en sus nodos, que pueden ayudar a desentrañar la etiología de enfermedades hematológicas, neurológicas, oncológicas etc e incluso a la creación de modelos celulares que emulen alteraciones genéticas que aparecen en el curso de diferentes patologías. La creación de este tipo de modelos celulares se ha comprobado que es una estrategia acertada para profundizar en el conocimiento de la etiología, progresión y tratamiento de enfermedades, incluso supone un avance en el testaje de fármacos dirigidos al tratamiento de ciertas patologías, buscando terapias más personalizadas que aumenten la eficacia de los tratamientos. Mediante esta comunicación se va a presentar al BNLC que supone una oportunidad para acceder a diferentes líneas de iPSCs, permitiendo a los investigadores acceder a esta herramienta biológica sin precedentes para uso en investigación biomédica.

EL REGISTRO DE DONANTES DE MUESTRAS PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA, UNA HERRAMIENTA PARA QUE LOS ANDALUCES CONTRIBUYAN A LOS AVANCES BIOMÉDICOS

De La Torre Ortega, L; Rejón García, J.D.; Catalina Carmona, P.; Aguilar Quesada, R.; Alonso Fernández, S.; Carrillo Ávila, J.A.; Del Río Ortiz, J.M.; Garrancho Pérez, J.; Ligeró Martín, G.; López Caraballo, L.; Lucena Aguilar, G.; Martínez Moreno, M.C.; Panadero Fajardo, S.; Rodríguez López, S.; Pacheco Rodríguez, MJ; Rodríguez Reyes, R.; Romero Sánchez, M.C.; Romero Torres, R; Sánchez López, A.M.; Campos Muñoz, A. Filiaciones: Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía

RESUMEN: El Biobanco en Red del Sistema Sanitario Público de Andalucía (SSPA) es una iniciativa de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía cuyo objetivo es la gestión de muestras humanas con el fin de garantizar la calidad de las mismas para su utilización en investigación biomédica. Su misión es fomentar la investigación biomédica facilitando la labor de los investigadores y la participación de la ciudadanía. Con el fin de fomentar la participación de la ciudadanía mediante la donación voluntaria y altruista de muestras biológicas y sus datos asociados, se crea en 2015 el Registro de Donantes de Muestras para Investigación Biomédica como iniciativa pionera por la Consejería de Salud. El Registro consiste en una base de datos donde se recogen los datos básicos de identificación y salud de las personas interesadas en participar de manera altruista en la investigación biomédica. Se trata de un registro que cuenta con todas las garantías legales de confidencialidad, bajo la responsabilidad y custodia de la Consejería en materia de Salud. El Registro de Donantes ofrece a todos los ciudadanos la posibilidad de contribuir al avance de la investigación Biomédica, inscribiéndose en una base de datos para que puedan ser invitados a donar muestras biológicas cuando los proyectos de investigación lo requieran. Por ello, el Registro de donantes junto con el Biobanco del Sistema Sanitario Público Andaluz ponen en marcha campañas de divulgación y promoción de la donación invitando tanto a los donantes ya inscritos como a la ciudadanía en general a inscribirse en el Registro. Además, las asociaciones de pacientes juegan un papel inestimable en el impulso del registro, son las que mejor entienden la importancia de la investigación biomédica y la necesidad de colaborar con los proyectos por el bien de la sociedad en general. En el marco del Registro, la Consejería de Salud ha establecido convenios de colaboración con estas asociaciones, con el fin de fomentar y difundir el Registro a la ciudadanía y posibilitar dar salida a muchos proyectos de investigación para los que antes no se podían atender por falta de muestras. El Registro de Donantes del Biobanco del SSPA está formado por aproximadamente 2250 inscritos y 5 asociaciones de pacientes colaboradoras (Parkinson Granada, Red Española de Madres y Padres Solidarios, Feder (Federación Española de Enfermedades Raras), Asociación Lupus Málaga y Autoinmunes y FEDEMA (Federación de Asociaciones de Esclerosis Múltiple de Andalucía) que mediante un convenio favorecen el fomento y la concienciación de la ciudadanía de la necesidad de donar muestras biológicas y datos para investigación. Además, en la actualidad estamos pendientes de materializar 10 nuevos convenios de colaboración con asociaciones de pacientes andaluzas de las provincias de Almería, Córdoba, Granada y Málaga. El Registro cuenta con personas inscritas con edades comprendidas entre 5 y los 91 años, de los cuales el 60% se consideran sanos y 40% restante presenta alguna patología. Hasta el momento, el Registro de Donantes ha permitido el desarrollo de 13 proyectos de investigación sobre enfermedades autoinmunes (5), enfermedades oncológicas (2), enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas (1), enfermedades cardiovasculares (1), COVID-19 (3) e incluso un proyecto referente a los controles de calidad en muestras. El Registro es una herramienta que permite satisfacer la necesidad de la ciudadanía de participar en la investigación biomédica y de los investigadores para obtener las muestras y datos en el formato adecuado necesarios para desarrollar sus proyectos de investigación. El futuro del registro es muy prometedor, pero es necesario incrementar la difusión entre la población con el objetivo de conseguir un mayor conocimiento del mismo, y, por ende, de donantes dispuestos a colaborar en el avance de la investigación donando muestras a los proyectos que lo necesiten.

SERVICIO DE MICROSCOPIA CONFOCAL Y ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL DEL ZAIDÍN (CSIC)

Alicia Rodríguez (1), Jose C. Jimenez-Lopez (1,2,3)

1. Servicio de Microscopía Confocal y Electrónica de Transmisión de la Estación Experimental del Zaidín (CTEM). CSIC
2. Responsable científico del Servicio de Microscopía Confocal y Electrónica de Transmisión de la Estación Experimental del Zaidín (CTEM). CSIC
3. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC); Estación Experimental del Zaidín; Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Granada 18008.

RESUMEN: El servicio de microscopía confocal y electrónica de transmisión de la Estación Experimental del Zaidín (CTEM) es un servicio centralizado que presta soporte técnico especializado a los investigadores de la EEZ, y a la comunidad científica fuera de la EEZ, a través de su página web (<https://www.eez.csic.es/es/servicio-de-microscopia-confocal-y-electronica-de-transmision-de-la-estacion-experimental-del-zaidin>), y a través de una serie de plataformas tecnológicas como la Sociedad Española de Microscopia (SME), o la Red Española de Microscopía Óptica Avanzada (REMOA). Asimismo, organiza y participa en actividades formativas, tanto especializadas como de carácter más general. El CTEM dispone de una cartera de servicios y de un listado de tarifas, así como de una normativa de acceso y uso a los servicios, que pueden consultarse en la web de la EEZ. El responsable científico cuenta con 20 años de experiencia en investigación y microscopía óptica, CLSM y electrónica de transmisión, así como en el mantenimiento de los equipos a su cargo. CTEM cuenta con un técnico especializado en microscopia que cumple con las labores propias del servicio, como el desarrollo de metodologías para los grupos de investigación que lo requieren, y una amplia gama de aplicaciones en microscopia desde epifluorescencia, microscopia de barrido laser confocal (CLSM) hasta microscopia electrónica de transmisión (TEM) y diferentes metodologías para la preparación de muestras de diversa naturaleza y múltiples aplicaciones en investigación de plantas, microorganismos y animales tanto para fluorescencia como microscopía electrónica de transmisión. Entre otras metodologías, CTEM cuenta con una estación de trabajo para muestras de gran tamaño (vegetales o animales) incluidas en ceras como parafina, etc.; metodologías para la preparación de muestras para inclusión en resinas acrílicas y epoxy, así como la preparación de células vivas con marcajes fluorescentes (sondas, anticuerpos, quantum dots, trackings, etc...) para epi-fluorescencia, CLSM y súper resolución; Metodologías de marcajes (inmunocitoquímica e inmunohistoquímica) para microscopia electrónica de transmisión, incluyendo el teñido de muestras para microscopía óptica (marcaje de proteínas, lípidos, carbohidratos, ADN/ARN, orgánulos específicos, trackings, etc.), contrastado de muestras para TEM, ej. tinción negativa, sombreados; acetato de uranilo y citrato de plomo, osmio, etc.; Microscopio óptico invertido con diferentes ópticas para luz transmitida, contraste de fase para observar células sin colorear, resultando especialmente útil para células vivas, contraste interferencial diferencial (DIC), Nomarsky; Estereomicroscopia Leica M165FC, con una óptica de zoom de 16,5:1 resuelve estructuras de hasta 1,1 micras para la obtención de imágenes fluorescentes detalladas; cuenta con un microscopio confocal (CLSM) Nikon; micrótomos y ultramicrotomos; Criostato/vibratomo Leica; y un Microscopio electrónico de transmisión TEM JEOL1011 para muestras biológicas y que opera a 80 o 100 kV.

EQUIPAMIENTO Y SERVICIOS DE LA PLATAFORMA DE PROTEÓMICA DEL IBS.GRANADA

Sonia Morales Santana, Sara Moreno San Juan, José Manuel Molina Molina, Paloma Muñoz de Rueda.

RESUMEN: La Plataforma de Proteómica está integrada en la Plataforma y Servicio de Apoyo del IBS.Granada. Cuenta con equipamiento de última generación para el análisis de interacción de biomoléculas, mediante tecnología de resonancia de plasmón de superficie Biacore T200 (Cytiva), con validación de ensayos, capaz de dar soluciones a la mayor parte de los problemas planteados en el área de la Interactómica. Entre las aplicaciones, destacan el descubrimiento y desarrollo de fármacos y dianas terapéuticas, screening de compuestos, análisis de biosimilares, vacunas, inmunogenicidad, control de calidad en bioterapéuticos y estudios SAR: Relación estructura y función, entre otros. También se dispone de equipamiento con control de temperatura para purificación automatizada de biomoléculas (cromatógrafo AKTA Pure 25M, Cytiva), paso previo habitual en los ensayos de interactómica con las biomoléculas de interés. Además, la Plataforma está dotada de un analizador multiparamétrico Bio-Plex con tecnología Luminex (Bio-Rad), que permite la cuantificación y la detección simultánea de hasta 100 proteínas diferentes (citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, etc.), produciendo resultados comparables a los tradicionales ELISAs, pero con mayor eficiencia y rango dinámico. Adicionalmente, la plataforma de Proteómica tiene disponible equipos para realizar electroforesis 1D y 2D, así como lectura de geles y blots en modo visible, quimioluminiscente y fluorescente, con capacidad de normalización mediante tecnología "stain-free". Se realizan diversas carteras de servicio y servicios a la carta, publicados en el siguiente enlace: <https://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-genomica-y-proteomica/> Por otra parte, el servicio de proteómica se complementa con otras plataformas como las de cultivos celulares, citometría, microscopía e imagen celular, que ofertan sus servicios ubicados en la misma unidad de investigación, y coordinados de forma centralizada.

CREACIÓN DE UNA NUEVA CARTERA DE SERVICIO EN LA UNIDAD DE CITOMETRÍA DEL IBS.GRANADA

Sara Moreno San Juan, Víctor Domingo Roa, Juan Miguel Ramírez León, Carlos Macías Oliva

RESUMEN: En el Área de Citometría de Flujo de las Plataformas de Apoyo a la investigación del Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA) se ha desarrollado junto con la Asociación veterinaria AniCura, la cartera de servicio “Determinación de la expresión del receptor de la vitamina D en neoplasias hemolinfáticas mediante Citometría de Flujo” que junto con la cartera de servicio “Inmunofenotipificación de leucemias y linfomas” nos permiten llevar a cabo una caracterización más completa de este tipo de afecciones. Esta nueva cartera de servicio se basa en los conocimientos descritos en medicina humana, en los que algunas de las células implicadas en neoplasias hematológicas expresan en gran medida el receptor de la vitamina D (VDR), sugiriendo que dicho receptor podría ser utilizado como diana terapéutica. Pero hasta la fecha no se ha documentado ninguna información relativa a la expresión de VDR en linfomas y leucemias en animales de experimentación. Además, sería la primera vez que se describe el uso de la citometría de flujo como método cuantitativo de la expresión de VDR en procesos neoplásicos en la especie canina. Para poner a punto esta cartera de servicio se ha evaluado la expresión de VDR en 30 animales con indicios de padecer enfermedades linfoproliferativas o leucemias (Linfomas de células B, linfomas de células T, leucemias agudas, leucemias crónicas y linfadenitis). Tras el análisis se ha comprobado que todos los animales con procesos neoplásicos presentaron una alta expresión del VDR, tanto en los linfocitos tumorales, como en los linfocitos no tumorales presentes en la muestra, sin embargo, los linfocitos de sangre periférica de perros sanos, usados como control, no presentaron una expresión significativa de dicho marcador. El área de Citometría cuenta con un Citómetro de flujo FACS Aria III con 4 líneas láseres que permite el análisis simultáneo de hasta 18 parámetros (16 marcadores fluorescentes, tamaño y complejidad). Este citómetro puede utilizarse para la realización de las distintas carteras de servicio ya diseñadas, como las descritas anteriormente, o para nuevas carteras personalizadas, para su uso con soporte técnico o para su uso en autoservicio. Además, se proporciona el asesoramiento técnico en cuanto al diseño del experimento y selección de fluorocromos, así como la posibilidad del procesamiento y análisis completo de la muestra.

SESIÓN 15.

Inteligencia Artificial y Biotecnología en Biomedicina

PÓSTERS

1. Estudio y perfeccionamiento de la reproducibilidad entre dispositivos en biosensores de puerta líquida basados en grafeno tras irradiación láser controlada
2. Péptidos antidiabéticos: fuentes, estructura primaria e identificación asistida por herramientas bioinformáticas
3. Péptidos reguladores de la respuesta inflamatoria: fuentes, estructura y mecanismos de modulación
4. DTT (Double-Tailing Trap) para miRNA-seq



ESTUDIO Y PERFECCIONAMIENTO DE LA REPRODUCIBILIDAD ENTRE DISPOSITIVOS EN BIOSENSORES DE PUERTA LÍQUIDA BASADOS EN GRAFENO TRAS IRRADIACIÓN LÁSER CONTROLADA

Jorge Ávila, Jose Carlos Galdon, María Isabel Recio, Carlos Marquez y Francisco Gamiz.

Grupo de investigación de Nanoelectrónica (CITIC-UGR), Universidad de Granada, España.

RESUMEN: Los sensores basados en grafeno que utilizan como puerta líquida electrolitos, líquidos iónicos y otros tipos de disoluciones acuosas han sido extensamente estudiados en la bibliografía, obteniéndose rendimientos excelentes. [1, 2] No obstante, debido a la alta sensibilidad del grafeno y la compleja naturaleza de las disoluciones de electrolitos, la reproducibilidad entre dispositivos llega a ser desafiante. [3] En este trabajo, se ha explorado la irradiación láser de las láminas de grafeno como un tratamiento rápido para mejorar la variabilidad eléctrica entre dispositivos en biosensores de puerta líquida basados en grafeno. Comparando los espectros de Raman antes y después del tratamiento con láser, se observa que antes de la exposición al láser, el espectro de Raman se ajusta al esperado para el de una sola capa de grafeno prístino, mientras que después del tratamiento láser, se observó el aumento de los picos D y D^{#039;}, relacionados con posibles alteraciones estructurales. Estos resultados indican que el tratamiento con láser tiene implicaciones importantes a nivel estructural en el grafeno. Tras la irradiación láser, se observó un aumento en la resistencia del dispositivo, creciendo rápidamente durante los primeros ciclos del tratamiento láser, estabilizándose después de 6 ciclos de irradiación en 2.8 k Ω . Mientras que cuando se caracterizaron los sensores usando la puerta líquida, la corriente del dispositivo disminuye con los sucesivos ciclos del láser. Además, también se observó que el punto de Dirac (voltaje al que la conductividad del sensor es mínima) se desplaza a voltajes más bajos. El aumento de la resistencia concuerda con la interpretación de la espectroscopía Raman, indicando cierto grado de degradación tras la exposición al láser. Sin embargo, la variabilidad eléctrica entre los dispositivos disminuye de manera estadísticamente significativamente, si comparamos los voltajes de Dirac de los dispositivos antes y después del tratamiento láser. En conclusión, nos encontramos frente a una situación de compromiso, en la que el tratamiento láser puede provocar cierto nivel de degradación de la capa de grafeno y a la vez, mejorar la interfaz de puerta líquida del electrolito con el grafeno. La optimización del grado de irradiación es clave para conseguir una interesante mejora en la reproducibilidad y funcionalidad de los sensores. Queda abierta la puerta para entender en profundidad el origen de este fenómeno y poder optimizar el rendimiento de los dispositivos para mejorar la detección de los sensores basados en puerta líquida. El grafeno es obtenido mediante deposición química de vapor a baja presión (CVD) sobre láminas de cobre policristalino utilizando metano como la fuente de carbono. Posteriormente, el grafeno se transfiere a sustratos de cuarzo limpios empleando la técnica de transferencia basada en PMMA [4]. El grafeno se recuece y litografía ópticamente para depositar los electrodos del sensor. El tratamiento con láser consiste en la radiación de la capa de grafeno mediante un grabador láser (longitud de onda de 445 nm).

[1] F. Chen et al., J. Am. Chem. Soc. 131, 9908–9909, (2009). [2] N. Liu et al., Sensors, 19 (2019). [3] A. Pirkle et al., Appl. Phys. Lett. 99, 122108, (2011). [4] G. Borin, et al., Carbon N. Y. 84, 82–9, (2015).

PÉPTIDOS ANTIDIABÉTICOS: FUENTES, ESTRUCTURA PRIMARIA E IDENTIFICACIÓN ASISTIDA POR HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS

Pedro J. García Moreno, Lizeth Ospina Quiroga, Fernando Rivero Pino, Raúl Pérez Gálvez, F. Javier Espejo Carpio, Antonio Guadix Escobar, Emilia M. Guadix Escobar

RESUMEN: La diabetes mellitus (DM) es uno de los síndromes más comunes presentes en la población mundial, asociado principalmente a hiperglucemia y cetoacidosis, y pudiendo derivar en complicaciones cardiovasculares. La DM se divide en dos tipos, siendo el tipo II (T2DM) responsable del 90% de los casos. En el 2017, cerca de 450 millones de personas en todo el mundo padecieron T2DM y se espera que para el 2045 esta cifra ascienda a los 650 millones. La terapia convencional, basada en la inyección de insulina o la ingesta de drogas sintéticas, presenta efectos secundarios a corto plazo y un coste económico elevado. Esto ha fomentado la búsqueda de alternativas como el uso de compuestos naturales bioactivos. En este sentido, algunas secuencias peptídicas, liberadas por hidrólisis enzimática de proteínas alimentarias, han demostrado actividad antidiabética en base a su capacidad de inhibición de enzimas reguladoras del índice glucémico como la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV), α -amilasa y α -glucosidasa. Las evidencias científicas confirman que la capacidad inhibidora de los péptidos antidiabéticos está fuertemente ligada a su estructura primaria (i.e. secuencia de aminoácidos), así como del origen de la proteína nativa. Este trabajo presenta una revisión sistemática sobre las secuencias peptídicas con poder antidiabético identificadas, organizadas según la proteína de origen y su mecanismo de inhibición enzimática. Este estudio se completa con el uso de herramientas bioinformáticas, capaces de predecir el potencial antidiabético de un péptido de secuencia de aminoácidos conocida (e.g. DPPIV score, molecular docking) o identificar proteínas alternativas que contengan la secuencia activa en su estructura primaria (e.g. BLAST). A la fecha, la mayoría de péptidos antidiabéticos identificados se han aislado de proteínas de animales terrestres y marinos, y en menor medida de fuentes vegetales. Algunas de las secuencias, aisladas a partir de hidrolizados u obtenidas por digestión in silico, presentan valores de IC50 menores a 50 μ M, lo que apoyaría su uso terapéutico. En esta revisión se discuten las características estructurales comunes a los péptidos antidiabéticos, siendo frecuente encontrarse secuencias entre 2 y 15 residuos con aminoácidos hidrófobos (Pro, Ala) en posición N-terminal.

Este trabajo se encuadra en el proyecto PID2020-114137RB-I00, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

PÉPTIDOS REGULADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA: FUENTES, ESTRUCTURA Y MECANISMOS DE MODULACIÓN

Raúl Pérez Gálvez, Carmen Berraquero García, Julia Rivera Jiménez, Pedro J. García Moreno, Antonio Guadix Escobar, Emilia M. Guadix Escobar

RESUMEN: La inflamación es la respuesta del sistema inmunitario de un organismo a estímulos nocivos causados por cualquier tipo de agresión de naturaleza física, química o biológica, con el objeto de eliminar la causa del daño y potenciar la reparación de los tejidos. El proceso inflamatorio está regulado por una cascada compleja de interacciones entre mediadores pro y antiinflamatorios que comprenden factores de crecimiento, citoquinas, eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos) y péptidos. Un proceso de inflamación aguda no controlado y prolongado en el tiempo puede dar lugar a una serie de enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis, la diabetes, los trastornos neurodegenerativos, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. La mayoría de fármacos antiinflamatorios usados para tratar los trastornos inflamatorios no son adecuados para controlar las enfermedades crónicas y suelen conllevar efectos secundarios adversos. Debido a esto se están realizando muchos esfuerzos en el desarrollo de terapias antiinflamatorias alternativas y más selectivas a partir de productos naturales o derivados de alimentos. Uno de los principales campos de interés son los péptidos bioactivos, que pueden obtenerse mediante hidrólisis enzimática de diferentes proteínas alimentarias. Los péptidos con actividad antiinflamatoria son capaces de inhibir, reducir y/o modular la expresión y actividad de mediadores de la inflamación, principalmente en las vías NF- κ B o MAPK implicadas en la inflamación crónica. La capacidad moduladora de los biopéptidos se relaciona con su composición en aminoácidos, su secuencia y su longitud. Se ha encontrado que la presencia de aminoácidos hidrofóbicos (Val, Ile, Pro) y con carga positiva (His, Arg, Lys) se relaciona con altos niveles de capacidad antiinflamatoria. Sin embargo, aún no se dispone de suficiente información sobre la relación entre su estructura y la función moduladora. Esta revisión ofrece una recopilación de las secuencias y estructuras identificadas como péptidos antiinflamatorios o inmunomoduladores, organizados en base a los mecanismos de modulación. Asimismo, es importante prestar atención a las fuentes de proteína (i.e. animales, vegetales, microorganismos) de las que se obtienen, así como a las condiciones de producción (hidrólisis enzimática), purificación y estabilización de estos compuestos bioactivos.

Este trabajo está adscrito al proyecto PY20_00021 de la Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades de la Junta de Andalucía.

DTT (DOUBLE-TAILING TRAP) PARA MIRNA-SEQ

Anaïs Redruello-Romero, David Lopez-Perez, Isabel Ruiz-Palmero, Marta López-Llaría, Sonia Morales-Santana, Josefa León y Ángel Carazo

RESUMEN: Las células eucariotas (y algunos virus) producen pequeñas moléculas de RNA no codificante (de 19 a 25 nucleótidos en sus formas maduras), conocidos como microRNAs (miRNAs), que regulan la expresión de numerosos genes. Actúan sobre los RNAs mensajeros del citoplasma, reconociendo secuencias específicas de las UTRs (5', 3'-untranslated regions) a través de las cuales modulan la frecuencia de traducción y la vida media del mensajero. Los miRNAs tienen un papel relevante en procesos tan importantes como la proliferación celular, la apoptosis, la diferenciación o el metabolismo energético. Su desregulación se asocia a la mayoría de los procesos patológicos humanos y, en particular, al cáncer. Es por ello, que son utilizados como biomarcadores para muchas patologías. La naturaleza química de los miRNAs (reducido tamaño, similitud entre variantes) y su escasa concentración en algunas muestras, suponen un desafío metodológico a todos los niveles (extracción, amplificación, secuenciación) y limitan la sensibilidad y especificidad. El análisis de los miRNAs se aborda mediante 3 grupos de técnicas: análisis de secuencias mediante RT-qPCR, microarray y secuenciación masiva (miRNA-seq). En ninguno de ellos existen soluciones eficaces a las barreras metodológicas. A pesar de los elevados estándares de calidad de la secuenciación masiva, cuando ésta se adapta a las peculiaridades del miRNA, surgen una serie de problemas de difícil solución, como el sesgo de muestreo (asociado a las escasas concentraciones en ciertas muestras) o, especialmente, el sesgo de ligación. Este último es importante puesto que los métodos actuales se basan en reacciones de ligación para añadir los adaptadores de secuenciación masiva. La probabilidad de unir dos moléculas de ácidos nucleicos, mediante una reacción de ligación, depende de las secuencias de sus extremos. Nuestra innovación, basada en nanotecnología, aporta la eliminación de los sesgos asociados a la ligación, ya que gracias a la aplicabilidad de la nanotecnología, podemos añadir los adaptadores mediante DNA polimerasa. Además, nuestra innovación permite amplificar, sobre la superficie de partículas magnéticas, el DNA copia procedente de miRNAs, lo que elimina los problemas asociados a la reducida cantidad de material genético en muestras de sangre. Por último, y no menos importante, nuestra innovación permite reducir los costes de fabricación de librerías de miRNAs.



“

El intercambio de conocimiento es clave para construir
una ciencia médica sólida