



**XII CONGRESO DE  
INVESTIGACIÓN  
BIOMÉDICA**

**LIBRO DE RESÚMENES**

**CIB2024**

**7,8 y 9 de febrero de 2024**

**Concurso de Posters y  
Comunicaciones Orales**

Aula Magna, Facultat de  
Medicina i Odontologia de la  
Universitat de València

**COMUNICACIONES ORALES**

- Expresión diferencial del miR-30b en diferentes tejidos de un modelo murino de menopausia experimental. *Teresa Gil Ruiz.*
- Estudio de las proteínas de unión a quimioquinas codificadas por el virus MPOX (TFG). *Samuel Donaire Carpio*
- Modelización de la hemato-toxicidad de nuevos metalofármacos antitumorales. *Patricia Delgado Aliseda*
- Generación de un modelo murino de cardiotoxicidad: caracterización funcional y fisiopatológica de los cambios inducidos por doxorubicina. *Marta Trillo Domínguez.*
- Salud mental y consumo de drogas en estudiantes de medicina: un estudio comparativo internacional. *Marta López Gilberte*
- Analizando el envejecimiento intrínseco: alteraciones microscópicas de la piel. *Marta Arnal Forné*
- Tratamiento Del Dolor Cervical A Través De Electroestimulación Percutánea Del Nervio Periférico: ensayo clínico aleatorizado a cuádruple ciego. *Maria José Giner García.*
- Descubriendo una nueva interacción funcional entre las células progenitoras hepáticas adultas, inflamación y la señalización del EGFR durante el daño colestásico. *María Figueroa Fuentes*
- Activación del desarrollo folicular y preservación de la calidad ovocitaria mediante una nueva técnica de fragmentación ovárica in vivo en un modelo preclínico de insuficiencia ovárica prematura. *Luis Miguel del Castillo Lima.*
- Obesity as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease: The Role of Leptin. *Jorge Salvador Méndez Hurtado*
- La inhibición de la Integrina  $\beta 1$  como estrategia terapéutica para las metástasis pulmonares no angiogénicas. *Irene de la Torre Cea*
- NOTCH4 en la diferenciación de los macrófagos asociados a tumor. *David Fernández Díaz*
- Estudio de la Interacción de Radiación con Nanopartículas de Oro en GEANT4 para Mejorar la Eficiencia de las Terapias Contra el Cáncer Basadas en Protones. *Brandon Santiago Guallazaca Gonzalez*
- mRNA localisation: a subcellular mechanistic target to reduce neovascularisation. *Ana Moreno Barriga.*

## POSTERS

- ¿Podemos aliviar el dolor lumbar con ejercicio? Efectos de una maniobra isométrica sobre la biomecánica lumbopélvica y los umbrales de dolor. *Zahim Rafael Escamilla Ugarte.*
- Study of antibiotic resistance in samples and isolated strains of conventionally grown leafy vegetables and strawberries. *Yolanda Domínguez Núñez.*
- Design of neuronal networks on PDMs. *Teresa Xue López Cuesta.*
- Efecto de la ausencia de dmrt5 en los sistemas oxitocinérgicos y vasopresinérgicos. *Sonia Amorós Bru.*
- The evaluation of three new drugs for the treatment of sickle cell disease. *Sara de la Caridad Cholvi Kindelán.*
- A genomic evolutionary approach for identifying potential diagnostic targets in viral genomes. *Santiago Pérez Marco*
- Understanding the 2022 mpox (monkeypox) virus global outbreak: research perspectives at cbms0, Madrid. *Samuel Donaire Carpio*
- Cambios estructurales y estereológicos del surco colateral en la enfermedad de alzheimer. *Rubén Rico Sánchez.*
- Impacto de la hemorragia intraventricular neonatal en el sistema cannabinoide endógeno. *Rime Jalal Gharnati*
- Estrés oxidativo en el ratón ts65dn, modelo murino de síndrome de down. *Pablo Hidalgo Fernández*
- PATHWAYS: diseño de un juego de mesa para fomentar el aprendizaje significativo de las vías metabólicas. *Mia Nigro*
- Caracterización neuropatológica del cerebro de un modelo murino de la enfermedad de alzheimer, con énfasis en la vía amígdalo-entorrino-hipocampal. *Melania Cebrián Ferreras.*
- ¿Puede un estudiante ser profesor? La enseñanza peer to peer en ecografía eFAST: un estudio piloto. *Marta López Gilberte*
- A Novel Cellular Model for Studying Polyglucosan Accumulation in Lafora Disease. *Marta Albuixech Benetó.*

- Estudio de la ancestría uniparental en poblaciones andaluzas: diversidad genética humana y su relación con la salud. *Marina González Barrio*
- "Caracterización de los neutrófilos diferenciados a partir de células madre y progenitores hematopoyéticos estimulados con diferentes ligandos microbianos". *María Sobén Urrea.*
- Estudio de miR-28 en un modelo experimental de infarto agudo de miocardio. *María Palop Medina.*
- Título del trabajo: estudio retrospectivo de las cromosomopatías causantes de infertilidad humana en una cohorte de 872 casos. *Laura Beaus Huerta.*
- Análisis del papel de las neuronas Kiss1 del AVPV en la generación del pico preovulatorio de LH en ratones. *José Joaquín García Vera.*
- Evaluación de los efectos del tratamiento del zumo de granada (*punica granatum*) en la internalización de vesículas extracelulares presentes en este. *José Alejandro Bernabeu Martínez.*
- Implicación de los factores ambientales y genéticos en el metabolismo del paracetamol. *Ignacio Argueta Calero.*
- Decoding Lung Cancer: AI Advancements as a diagnostic tool. *Gina Alhakim.*
- Relación entre autofagia y apoptosis en el desarrollo embrionario de retinas de pollo. *Gema García Guirado.*
- Química biortogonal en biomedicina. *Eva Martín Sarrate.*
- Molecular characterization of wolbachia wmel in native populations of drosophila for its application in biocontrol of the tiger mosquito in valencia. *Esther Parra Egea.*
- Role of actin and myosin in the process of intestinal cell extrusión. *Elia López Serrano.*
- 'Red Bull no te da alas': Análisis de bebidas energéticas. *Elena Gálvez Gutiérrez.*
- Impacto estructural de mutaciones en TXD15 (Thioredoxin domain-containing protein 15) como potencial causa de ciliopatías. *Cristina Lázaro Ruiz.*
- Optical Genome Mapping solves unsuccessful karyotypes in acute lymphoblastic leukemia. *Carolina López Benet.*
- Quantification of acrylamide content in popcorn using a sustainable extraction method. *Carmen Fernández Matarredona.*

- Estudio de las Interacciones de las Nanopartículas autoensambladas basadas en un ELR Anfifílico Negativo y Neutro Utilizando Modelos de Membranas Biológicas. *Brandon Santiago Guillazaca Gonzalez.*
- Discoloración dental provocada por cementos selladores hidráulicos y su respuesta al blanqueamiento dental. *Aroa Bautista Pérez.*

# Expresión diferencial del miR-30b en diferentes tejidos de un modelo murino de menopausia experimental.

*Gil-Ruiz T., Palop-Medina M., Rosales-Ariza C., Descals-Beltrán B., Paes A.B., Pérez-Cremades D., Hermenegildo C., Novella S.*

*Dep. Fisiología, Universitat de València - Instituto de Investigación Biomédica INCLIVA, València, España*

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, existen diferencias específicas de sexo en cuanto prevalencia, incidencia y pronóstico (Hayward, 2000). Las mujeres en edad fértil presentan una menor incidencia de ECV que los hombres de su misma edad. Sin embargo, el riesgo cardiovascular en mujeres aumenta con la aparición de la menopausia (Virani et al., 2021). Los estrógenos, especialmente el  $17\beta$ -estradiol (E2), participan en la regulación de la función vascular a través de mecanismos genómicos y epigenéticos. Entre los mecanismos de regulación activados por los estrógenos destacan los miRNAs, especialmente el miR-30b-5p. Este miRNA, sensible a los niveles de estrógenos, está implicado en la regulación de procesos relacionados con el mantenimiento de la función cardiovascular. (Pérez-Cremades et al., 2018; Zhang et al., 2019).

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Se emplean una serie de herramientas bioinformáticas (miRBase, TransmiR, miRDB, TargetScan, microT-CDS y miRwalk) para poder conocer los factores de transcripción reguladores del miR-30b-5p, así como los genes dianas predichos del miR-30b-5p y los procesos biológicos humanos que puede regular dicho miRNA. Para conocer la influencia de los estrógenos sobre la expresión de miR-30b-5p, se realiza un ensayo RT-qPCR en diversos tejidos de ratones hembra (n=3) y macho (n=3) pertenecientes a la cepa AKR/J. Y, además, se analiza la expresión del miRNA en el corazón de un modelo murino de menopausia experimental con 3 grupos experimentales: ratonas ovariectomizadas (Ovx), ratonas ovariectomizadas y tratadas con E2 (OvE) y ratonas control de la cirugía (Sham).

## RESULTADOS.

El análisis de enriquecimiento de las dianas predichas indica que el miR-30b-5p participa en los procesos de apoptosis, inflamación, angiogénesis e hipoxia, que suceden en el endotelio vascular. A través de estas rutas, miR-30b-5p podría contribuir al mantenimiento del estado fisiológico del sistema vascular. Además, se observó que el miR-30b-5p se expresa en diversos tejidos de ratones macho y hembra (corazón, músculo esquelético, grasa abdominal, hígado, bazo, riñón, pulmón y grasa perivascular). Sin embargo, en corazón y músculo esquelético, las ratonas exhiben niveles más elevados de miR-30b-5p en comparación con los ratones macho. Por último, la depleción de hormonas ováricas causada por la ovariectomía afecta a la expresión de miR-30b-5p en el corazón de ratonas. Se observó una expresión diferencial del miRNA en los distintos grupos de estudio

analizados, siendo menor su expresión en el grupo de ratonas Ovx respecto al grupo control (Sham).

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Los resultados indican que miR-30b-5p puede actuar como regulador postranscripcional de la expresión génica en las acciones vasculares mediadas por E2, participando como mediador en las vías de señalización de estrógenos que inducen acciones cardioprotectoras. El análisis integrativo realizado en el presente trabajo apoya la contribución directa que tienen los estrógenos en el mecanismo de protección cardiovascular.

#### **FINANCIACIÓN**

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III - FEDER-ERDF (PI19/01714; PI22/1083), la Generalitat Valenciana (CIAICO2021/211; CIGE/2021/158) y la Acción COST (CA21153 AtheroNET). B.D.B. es investigadora predoctoral de la GVA (CIACIF/2022/331).

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Hayward, C. (2000). The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovascular Research*, 46(1), 28-49. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00005-5)

Pérez-Cremades, D., Mompeón, A., Vidal-Gómez, X., Hermenegildo, C., & Novella, S. (2018). Mirna as a new regulatory mechanism of estrogen vascular action. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 473. <https://doi.org/10.3390/ijms19020473>

Virani, S. S., Alonso, A., Aparicio, H. J., Benjamin, E. J., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., Chamberlain, A. M., Cheng, S., Delling, F. N., Elkind, M. S. V., Evenson, K. R., Ferguson, J. F., Gupta, D. K., Khan, S. S., Kissela, B. M., Knutson, K. L., Lee, C. D., Lewis, T. T., ... On behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. (2021). Heart disease and stroke statistics—2021 update: A report from the american heart association. *Circulation*, 143(8). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000950>

Zhang, X., Dong, S., Jia, Q., Zhang, A., Li, Y., Zhu, Y., Lv, S., & Zhang, J. (2019). The microRNA in ventricular remodeling: The miR-30 family. *Bioscience Reports*, 39(8), BSR20190788. <https://doi.org/10.1042/BSR20190788>



# Estudio de las proteínas de unión a quimioquinas codificadas por el virus MPOX (TFG)

*Donaire Carpio, Samuel*

*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa*

## **INTRODUCCIÓN.**

El virus mpox (MPXV) es un poxvirus emergente de gran relevancia para la salud pública, causando más de 90000 casos de mpox en todo el mundo desde que brotes sin precedentes tuviesen lugar en mayo de 2022. Las razones detrás de la magnitud de estos brotes todavía no son conocidas, aunque existe evidencia de que MPXV está adaptándose a nuevos huéspedes, incluidos los humanos.

Para algunos poxvirus similares, las proteínas virales de unión a quimioquinas (vCKBPs) se han descrito como factores de virulencia críticos que contribuyen a la evasión de la respuesta inmunitaria innata neutralizando quimioquinas en el medio extracelular y uniéndose a glucosaminoglicanos (GAGs), impidiendo que los leucocitos sean reclutados en los sitios de infección. No obstante, las vCKBPs codificadas por los clados circulantes de MPXV nunca han sido caracterizadas, a pesar de su importancia en la interacción del virus con sus huéspedes.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

En este Trabajo de Fin de Grado, las cinco vCKBPs (CrmB, 35K/vCCi, SCP-1, SCP-3, A41) codificadas por un clado emergente de MPXV han sido expresadas por primera vez. Para ello, se ha utilizado el sistema heterólogo basado en generación de baculovirus recombinantes capaces de expresar cada una de estas vCKBPs, y dichas proteínas han sido purificadas por cromatografía de afinidad. Hemos evaluado el conjunto de quimioquinas unidas por estas vCKBPs por resonancia de plasmones de superficie (SPR), así como la capacidad de estas vCKBPs de unirse a GAGs mediante ensayos de citometría de flujo utilizando líneas celulares mutantes para diferentes tipos de GAGs. Estos ensayos de unión a GAGs han sido complementados por inmunofluorescencia.

## **RESULTADOS.**

Nuevas funciones han sido descritas para estas proteínas nunca antes estudiadas. Los análisis en SPR han permitido identificar numerosas quimioquinas de humano y ratón unidas por estas vCKBPs, así como el perfil selectivo de algunas de estas vCKBPs por ciertas familias de quimioquinas. Nuestros resultados podrían sugerir que las vCKBPs del clado circulante de MPXV unirían más efectivamente quimioquinas humanas frente a sus ortólogas en ratón, aunque la falta de parámetros cinéticos nos impide tomar conclusiones al respecto. Hemos demostrado que las proteínas CrmB, A41, y 35K/vCCi pueden unirse a las superficies celulares. CrmB y 35K/vCCi lo

harían específicamente a heparina, mientras que la unión de A41 parecería ser independiente de GAGs.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES.**

Esta primera caracterización de las vCKBPs de MPXV es clave para estudios más profundos sobre la interacción de MPXV con sus huéspedes, lo cual es interesante para el desarrollo de nuevos fármacos anti-inflamatorios derivados de las funciones de estas vCKBPs. Dado que las vCKBPs del clado circulante de MPXV contienen mutaciones con respecto a los clados más antiguos, la comparación entre estas proteínas podría ayudar a esclarecer las bases moleculares detrás del origen de los brotes de MPXV en 2022.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Americo, J. L., Earl, P. L., & Moss, B. (2023). Virulence differences of mpox (monkeypox) virus clades I, IIa, and IIb.1 in a small animal model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(8), e2220415120.
2. Alcamí, A. (2023). Pathogenesis of the circulating mpox virus and its adaptation to humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(13), e2301662120.
3. Hernaez, B., & Alcamí, A. (2020). Virus-encoded cytokine and chemokine decoy receptors. *Current Opinion in Immunology*, 66, 50–6.
4. Isidro, J., Borges, V., Pinto, M., Sobral, D., Santos, J. D., Nunes, A., et al. (2022). Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi-country outbreak of Monkeypox virus. *Nature Medicine*, 28(8), 1569–72.

# Modelización de la hemato-toxicidad de nuevos metalofármacos antitumorales

Delgado P<sup>1</sup>, Sánchez MI, Calés C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Complutense de Madrid, <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreale (IIBm-CSIC-UAM)

## INTRODUCCIÓN

Las quimioterapias basadas en metalofármacos como el cis-platino a menudo llevan asociadas una serie de efectos secundarios, entre los que se encuentra la disminución del número de eritrocitos y megacariocitos, lo cual puede retrasar el efecto de los tratamientos, comprometiendo gravemente la salud del paciente. Por este motivo, en este estudio se plantea la puesta a punto de un procedimiento para evaluar la hemato-toxicidad de nuevos metalofármacos antitumorales, que han sido diseñados y caracterizados en nuestro grupo. El modelo experimental está basado en dos líneas celulares eritroleucémicas humanas, K562 y HEL: ambas proliferan y mantienen en cultivo características fenotípicas de progenitor bipotencial, pero pueden ser inducidas a diferenciar, mediante el uso de agentes químicos definidos, hacia formas más o menos maduras de megacariocitos o de eritroblastos, precursores de las plaquetas y hematíes circulantes, respectivamente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha evaluado la toxicidad de dos complejos yodados de platino en conformación trans y cis, I5 e I6 respectivamente, en diferentes momentos del proceso diferenciación hacia linaje megacariocítico o eritroide, y a través de ensayos de viabilidad, análisis por citometría de flujo y del fenotipo terminalmente diferenciado. Como control positivo se ha utilizado cisplatino, estándar bien conocido por su uso en clínica.

## RESULTADOS

Los resultados permiten detectar y definir diferencias en los efectos sobre la supervivencia celular, sobre la aparición de células apoptóticas y sobre la capacidad de poliploidización entre el cis-platino y los dos compuestos yodados. Asimismo, permite detectar una mayor sensibilidad de los tratamientos en las dos líneas sin diferenciar (respondiendo ambas de manera muy similar), y una mayor resistencia en las formas más maduras, alcanzadas por las células HEL diferenciadas hacia megacariocito y por K562 hacia el linaje eritroide.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

A diferencia de los modelos existentes, este trabajo basado en dos líneas celulares no diferenciadas y en diferentes etapas de diferenciación, proporciona una visión precisa de la hemato-toxicidad de varios compuestos en dos linajes distintos. Por ello, este estudio sienta las bases de un modelo celular robusto que permite detectar diferencias de toxicidad de fármacos, no solamente entre éstos, sino también entre uno u otro linaje y entre diferentes estadios de diferenciación, de manera rápida, económica y reproducible. No obstante, aunque este modelo tiene la ventaja de no recurrir a la utilización de muestra humanas o de animales de experimentación, es importante tener en cuenta que, una vez el modelo asignara una hemato-

toxicidad para un nuevo metalofármaco, sería necesario evaluarlo en modelos ex vivo de ratón y/o en aproximaciones experimentales más cercanas al in vivo.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Perše, M. Cisplatin Mouse Models: Treatment, Toxicity and Translatability. *Biomedicines* 2021, 9, 1406. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101406>

Mahalingaiah, P., Palenski, T., & Van Vleet, T. (2018). An In Vitro Model of Hematotoxicity: Differentiation of Bone Marrow-Derived Stem/Progenitor Cells into Hematopoietic Lineages and Evaluation of Lineage-Specific Hematotoxicity. *Current Protocols in Toxicology*, 76. <https://doi.org/10.1002/cptx.45>

Messori, L., Cubo, L., Gabbiani, C., Álvarez-Valdés, A., Michelucci, E., Pieraccini, G., Ríos-Luci, C., León, L. G., Padrón, J. M., Navarro-Ranninger, C., Casini, A., & Quiroga, A. G. (2012). Reactivity and Biological Properties of a Series of Cytotoxic Pt(II) (amine)<sub>2</sub> Complexes, Either cis or trans Configured. *Inorganic Chemistry*, 51(3), 1717-1726. <https://doi.org/10.1021/ic202036c>

Valeri, A., Alonso-Ferrero, M. E., Cerrato, L., Martínez, S., Bueren, J. A., & Albella, B. (2010). Development of an in vitro model for the simultaneous study of the efficacy and hematotoxicity of antileukemic compounds. *Toxicology Letters*, 199(3), 317-322. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.09.014>

# GENERACIÓN DE UN MODELO MURINO DE CARDIOTOXICIDAD: CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL Y FISIOPATOLÓGICA DE LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR DOXORRUBICINA

Trillo M,2,3, Cebro-Márquez M2,3,4, Vilar-Sánchez M2,3, Serrano-Cruz V2,3, González-Juanatey JR2,3,4,5, Moscoso I ,3,4, Lage R ,3,4,6

1.Universidad Francisco de Vitoria (UFV), 28223 Madrid, España.

2.Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CiMUS), 15782Santiago de Compostela, España.

3.Instituto de Investigación Sanitaria Santiago de Compostela (IDIS), 15706 Santiago de Compostela,España.

4.Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV).

5.Servizo de Cardiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS), 15706 Santiago de Compostela, España.

6.Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela (USC), 15782 Santiago de Compostela, España.

## INTRODUCCIÓN

La cardiotoxicidad (CTox), un efecto adverso asociado a determinados tratamientos quimioterápicos, aumenta la morbimortalidad del paciente oncológico, siendo un factor limitante. El diagnóstico se basa en el hallazgo de anomalías en la función cardíaca mediante ecocardiografía y la valoración de biomarcadores séricos, signos que se manifiestan una vez existe daño cardíaco. Por ello es necesario identificar nuevos biomarcadores que permitan un diagnóstico preclínico.

Estudios previos, en pacientes con cáncer de mama, identifican los microRNAs (miRs) como potenciales biomarcadores tempranos de CTox. Nuestro objetivo fue generar un modelo in vivo de CTox inducida por doxorubicina (DOX) que permita profundizar en la fisiopatología y la identificación de biomarcadores tempranos.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Ratas macho Sprague-Dawley (8 semanas) fueron tratadas intraperitonealmente con DOX (dosis acumuladas: 5 y 10mg/kg). Se valoró la función cardíaca (fracción de acortamiento, FA y fracción de eyección del ventrículo izquierdo, FEVI) mediante ecocardiografía. Se determinó ratio peso del corazón/peso total del animal (PC/PT). Se analizaron hallazgos histológicos por hematoxilina-eosina, y mediante RT-qPCR se evaluó la expresión de marcadores de daño, así como la expresión de miRs previamente descritos.

## RESULTADOS.

Ambos grupos muestran una disminución significativa de la FA (18,9 y 24,2%, respectivamente) y de la FEVI (10,1 y 14,1%, respectivamente) respecto a su valor basal. El grupo 10 mg/kg muestra un aumento de ratio PC/PT. Ambos grupos muestran incremento de infiltrado inflamatorio,

hemorragia y miocitolisis. Se evidencia una elevación en los marcadores de fibrosis (COL1a1, COL1a2, TIMP), inflamación (CD68, CD14 y CD11b) y daño (Rac1 y PP2ACa) en el grupo de 10 mg/kg. Además, se observa sobreexpresión de miR-142-3p, miR-32-5p y miR-20a-5p en ambas dosis, mientras que miR-652-3p y miR-340-5p se regulan para la dosis de 10 mg/kg. En esta línea, hay una regulación a la baja de la diana validada del miR 652-3p, Jagged1.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

El tratamiento in vivo con DOX 10 mg/kg presenta características de daño y función cardíaca compatibles con la CTox inducida por antraciclinas en pacientes. Además, muestra expresión diferencial de miRs, identificados como potenciales biomarcadores de CTox. Estos datos sugieren que el tratamiento con una dosis acumulada de 10 mg/kg permite generar un modelo preclínico adecuado para profundizar en la fisiopatología de la CTox y la búsqueda de dianas terapéuticas que puedan reducir el impacto pronóstico en el paciente oncológico.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Cebro-Márquez, M. Identificación de novos biomarcadores de cardiotoxicidade en pacientes de cancro de mama. (Universidade de Santiago de Compostela, 2021).

# SALUD MENTAL Y CONSUMO DE DROGAS EN ESTUDIANTES DE MEDICINA: UN ESTUDIO COMPARATIVO INTERNACIONAL

*Autores: Marta López Gilberte<sup>1</sup>, Beatriz Atienza Carbonell<sup>1</sup>, Adrian Krotz<sup>2</sup>, Vicent Balanzá, Martínez<sup>1</sup>*

*1. Facultat de Medicina i Odontologia Universitat de València*

*2. Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg*

## **INTRODUCCIÓN**

Numerosos estudios muestran elevadas tasas de depresión, ansiedad e ideación suicida entre estudiantes de medicina. Sin embargo, hasta la fecha se han realizado pocos estudios comparativos entre universidades de dos países. El objetivo del presente estudio es comparar la prevalencia de depresión, ansiedad e ideación suicida entre los estudiantes del grado en Medicina de la Universitat de València (Facultat de Medicina i Odontologia) y de la Universidad de Heidelberg – campus Mannheim (Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg) y analizar su relación con el consumo de drogas.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se invitó al estudiantado matriculado en el grado en Medicina (curso 2022- 2023) de ambas facultades a completar dos cuestionarios online para el cribado de síntomas de depresión (PHQ-9) y de ansiedad (GAD-7). La ideación suicida se evaluó con el ítem 9 del PHQ-9. Además, se recogió el consumo de diversas drogas a lo largo de la vida y en los 30 días previos a la realización de la encuesta.

## **RESULTADOS.**

693 estudiantes (74,2% mujeres) contestaron la encuesta (19,9% tasa de respuesta). De ellos, 207 (29,9%) estudiaban en Mannheim y 486 (70,1%) en Valencia. La prevalencia de síntomas depresivos de moderados a graves fue similar (46,4% en Mannheim vs. 39,1% en Valencia;  $p=0,075$ ). Respecto a la ansiedad, un 29,5% de las personas participantes en Mannheim y un 42,8% en Valencia mostraron ansiedad moderada-severa, con diferencias significativas ( $p<0,001$ ). La ideación suicida fue 16,3% en Valencia y 30,0% en Mannheim ( $p<0,001$ ).

La mayoría del estudiantado de medicina había consumido drogas en algún momento de su vida, siendo las más consumidas el alcohol, las bebidas energéticas y el tabaco. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas universidades en el consumo alguna vez en la vida de benzodiazepinas ( $p<0,001$ ), y, spice ( $p=0,022$ ) (mayor consumo en

Valencia), así como cannabis ( $p=0,003$ ), anfetaminas ( $p=0,008$ ) y ketamina ( $p=0,002$ ), con mayor consumo en Mannheim. La sustancia más consumida en el último mes fue el alcohol, seguida de las bebidas energéticas y el tabaco. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas universidades en el consumo en los últimos 30 días de tabaco ( $p=0,003$ ) y benzodiacepinas ( $p<0,001$ ), con mayor consumo en Valencia.

En cuanto a la asociación entre el consumo de drogas y la prevalencia de síntomas mentales en la muestra total, los estudiantes que habían consumido bebidas energéticas tanto en algún momento de su vida como en los últimos 30 días presentaron mayor prevalencia de síntomas depresivos ( $p=0,031$  y  $p<0,001$  respectivamente). Además, el consumo de benzodiacepinas en algún momento de la vida y en los últimos 30 días se relacionó con una mayor prevalencia de depresión, ansiedad e ideación suicida ( $p<0,001$ ).

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

La prevalencia de depresión en estudiantes de Mannheim es similar a la de estudios recientes en Alemania. Los resultados en Valencia suponen un aumento en la tasa de depresión e ideación suicida respecto a los obtenidos en 2018. En general, las tasas de depresión, ansiedad e ideación suicida son superiores a las reportadas antes de la pandemia por la COVID-19.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Puthran, R., Zhang, M. W. B., Tam, W. W., & Ho, R. C. (2016). Prevalence of depression amongst medical students: A meta-analysis. *Medical Education*, 50(4), 456-468. <https://doi.org/10.1111/medu.12962>
2. Rotenstein, L. S., Ramos, M. A., Torre, M., Segal, J. B., Peluso, M. J., Guille, C., Sen, S., & Mata, D. A. (2016). Prevalence of Depression, Depressive Symptoms, and Suicidal Ideation Among Medical Students: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA*, 316(21), 2214-2236. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.17324>
3. Tam, W., Lo, K., & Pacheco, J. (2019). Prevalence of depressive symptoms among medical students: Overview of systematic reviews. *Medical Education*, 53(4), 345-354. <https://doi.org/10.1111/medu.13770>



## ANALIZANDO EL ENVEJECIMIENTO INTRÍNSECO: ALTERACIONES MICROSCÓPICAS DE LA PIEL

Arnal-Forné M.<sup>1</sup>, Molina-García T.<sup>2</sup>, Ortega M.<sup>1</sup>, Marcos-Garcés V.<sup>2,3</sup>, Molina P.<sup>4</sup>, Ferrández-Izquierdo A.<sup>1,2,5</sup>, Bodí V.<sup>2,3,6,7</sup>, Ríos-Navarro C.<sup>1,2,+</sup>, Ruiz-Saurí A.<sup>1,2,+</sup>

1) Departamento de Patología, Universidad de Valencia, España 2) INCLIVA Instituto de Investigación Sanitaria, Valencia, España.3) Departamento de Cardiología. Hospital Clínico Universitario. Valencia, España.4) Departamento de Patología, Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Valencia, España.5) Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario. Valencia, España.6) Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER)-CV. Madrid, España.7) Departamento de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España.

### INTRODUCCIÓN

La piel constituye la principal barrera de protección frente al ambiente externo, pero también participa en las relaciones humanas, siendo uno de los determinantes de la belleza más importantes y, en consecuencia, un reclamo importante de la industria farmacéutica. Dado que el envejecimiento de la piel es un factor importante tanto en el ámbito médico como social, la presente investigación tiene como objetivo caracterizar los cambios microscópicos en la composición de la piel humana debido al envejecimiento intrínseco (aquel que no se encuentra influenciado por factores externos), mediante el análisis histológico de una región corporal fotoprotendida, como lo es la zona periumbilical.

### MATERIAL Y MÉTODOS.

Se tomaron muestras del área periumbilical de 25 autopsias y luego fueron clasificadas en cuatro grupos según la edad: niños (0-12 años), jóvenes (13-25 años), adultos de mediana edad (26-54 años), ancianos (>55 años). Se realizaron diferentes tinciones histológicas tradicionales (hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson, orceína, azul de toluidina, azul alcian y la reacción de Feulgen) e inmunohistoquímicas (CK20, CD1a, Ki67 y CD31). Después de fotografiarlas con el microscopio óptico Leica DM3000, se analizaron morfológicamente un total de 1.879 imágenes utilizando Image ProPlus 7.0 para su posterior análisis estadístico con GraphPad 9.0.

### RESULTADOS.

Entre nuestros resultados, la epidermis mostró una disminución en su espesor, así como en los índices de interdigitación y mitótico, mientras que los melanocitos aumentaron. La dermis papilar, pero no la reticular, mostró un espesor incrementado con el envejecimiento. Concretamente, en la capa papilar, los mastocitos y los glucosaminoglicanos se expandieron, mientras que la dermis

reticular mostró una reducción tanto de los glucosaminoglicanos como de las fibras elásticas. Además, la celularidad total y la vascularización de ambas regiones dérmicas disminuyeron con el envejecimiento.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Este análisis morfométrico de piel fotoprottegida revela que el envejecimiento intrínseco influye significativamente en la composición de la piel humana, forjando así el camino hacia futuras investigaciones sobre las bases moleculares responsables de las alteraciones observadas, así como de potenciales estrategias antienvjecimiento.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Csekes, E., & Račková, L. (2021). Skin aging, cellular senescence and natural polyphenols. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12641.

Marcos-Garcés, V., Molina Aguilar, P., Bea Serrano, C., García Bustos, V., Benavent Seguí, J., Ferrández Izquierdo, A., & Ruiz-Saurí, A. (2014). Age-related dermal collagen changes during development, maturation and ageing—a morphometric and comparative study. *Journal of anatomy*, 225(1), 98-108.

Richey, M. L., Richey, H. K., & Fenske, N. A. (1988). Aging-related skin changes: development and clinical meaning. *Geriatrics (Basel, Switzerland)*, 43(4), 49-52.

# TRATAMIENTO DEL DOLOR CERVICAL A TRAVÉS DE ELECTROESTIMULACIÓN PERCUTÁNEA DEL NERVIOS PERIFÉRICO: ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO A CUÁDRUPLE CIEGO

Giner MJ 1,2, Ortega FJ 3,4, Tomás E, Pérez-Cervera L 1, Valdesuso R 3, Navarro-Andreu I 1,2, Delicado-Miralles M 1,2,3, E. Velasco 1,6

1. Neuroscience in Physiotherapy (NiP), Independent Research Group, Elche, Spain 2. Instituto de Neurociencias, Universidad Miguel Hernández-CSIC, San Juan de Alicante, Spain 3. Clínica de Fisioterapia y Rehabilitación Avanzada RehAv Elche, Elche, España 4. Departamento de Fisioterapia, Universidad CEU-Cardenal Herrera, Elche, España 5. Departamento de patología y cirugía, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, Spain 6. Laboratory of Ion Channel Research, Department of Cellular and Molecular Medicine, KU Leuven, VIB Center for Brain & Disease Research, Leuven, Belgium

## INTRODUCCIÓN

La estimulación percutánea del nervio periférico (pPNS, por sus siglas en inglés) es una técnica mínimamente invasiva, que consiste en estimular eléctricamente un nervio periférico mediante la inserción de una aguja guiada ecográficamente. En un contexto clínico, se utiliza en el abordaje de condiciones como el dolor muscular, postquirúrgico o las lesiones neuropáticas. Fisiológicamente, la estimulación eléctrica de las neuronas aferentes primarias induce plasticidad en los sistemas nociceptivo y somatosensorial humano, produciendo analgesia en el territorio

inervado por el nervio estimulado. Por ello, este estudio tiene como objetivo investigar los efectos terapéuticos de dos protocolos de pPNS diseñados para potenciar los circuitos no nociceptivos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

45 pacientes con dolor cervical fueron asignados a uno de los siguientes tres grupos de intervención (n por grupo = 15): estimulación percutánea en trenes de alta frecuencia (pTAF), estimulación percutánea theta-burst (pTB) y estimulación eléctrica nerviosa transcutánea (TENS). Se utilizó una Escala numérica de dolor (verbal NRS) para evaluar el dolor de los sujetos en reposo y el dolor evocado por movimiento doloroso. Se midió la fuerza máxima junto con la señal electromiográfica del músculo trapecio superior. Estas mediciones se realizaron en condiciones basales e inmediatamente después del tratamiento. Adicionalmente, a la semana del tratamiento, se evaluó de nuevo el dolor que presentaban los sujetos.

## **RESULTADOS.**

El protocolo pTAF fue el único que indujo hipoalgesia tanto en reposo ( $p = 0,0009$ ) como en movimiento ( $p = 0,0096$ ). Los grupos pTB y TENS solo indujeron hipoalgesia durante el movimiento ( $p = 0,0003$ ,  $p = 0,0022$ , respectivamente). Por otro lado, los protocolos pTB y TENS produjeron un aumento significativo de la fuerza tras el tratamiento ( $p = 0,0214$ ,  $p = 0,0185$ ). A la semana del tratamiento, únicamente los protocolos de pPNS, pTAF y pTB, experimentaron una disminución del dolor significativa ( $p = 0,041$ ,  $p < 0,0001$ ). No se observaron diferencias en el reclutamiento muscular en ninguno de los grupos.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Este trabajo demuestra que dos protocolos de estimulación eléctrica percutánea, destinados a inducir potenciación a largo plazo sobre fibras aferentes mayoritariamente no nociceptivas, reducen el dolor en sujetos patológicos con mayor eficacia y duración que el protocolo de referencia actual (TENS). Además, estos protocolos inducen, o no, cambios en la función motora dependiendo de su parametrización. Estos resultados nos acercan a comprender los efectos sensoriales y motores de la estimulación nerviosa periférica, y nos permiten avanzar en la optimización clínica de esta terapia, trasladando conocimiento básico a la práctica asistencial.

## DESCUBRIENDO UNA NUEVA INTERACCIÓN FUNCIONAL ENTRE LAS CÉLULAS PROGENITORAS HEPÁTICAS ADULTAS, INFLAMACIÓN Y LA SEÑALIZACIÓN DEL EGFR DURANTE EL DAÑO COLESTÁSICO.

*Figueroa-Fuentes M<sup>1</sup>, García-Sáez J<sup>1</sup>, González-Corralejo C<sup>1</sup>, Roncero C<sup>1</sup>, Lazcanoiturburu N<sup>1</sup>, Gutiérrez-Uzquiza A<sup>1</sup>, Vaquero J<sup>2,3</sup>, González-Sánchez E<sup>2,3</sup>, Bhutia K<sup>4</sup>, Calero-Pérez S<sup>5</sup>, Maina F<sup>6</sup>, Traba J<sup>7</sup>, Valverde M A<sup>5</sup>, Fabregat I<sup>2,3</sup>, Herrera B<sup>1,3</sup>, Sánchez A<sup>1,3</sup>.*

*1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Instituto de Investigación Sanitaria "Hospital Clínico San Carlos" (IdISSC), Madrid, España. 2. Grupo TGF- $\beta$  y Cáncer, Programa Oncobell, Instituto de Investigación Biomédica Bellvitge (IDIBELL), Barcelona España, 3. Biomedical Research Networking Center in Hepatic and Digestive Diseases (CIBEREHD-ISCIII), Madrid, España. 4. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, España. 5. Instituto de Investigación Biomédica "Alberto Sols", Spanish National Research Council and Autonomous University of Madrid (IIBM, CSIC-UAM); Biomedical Research Networking Center in Diabetes and Associated Metabolic Disorders of the Carlos III Health Institute (CIBERDEM-ISCIII), Madrid, Spain 6. Aix Marseille Univ, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Cancérologie*

de Marseille (CRCM), Institut Paoli-Calmettes, Turing Center for Living Systems, Marseille, France.  
7. Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Autónoma de Madrid (CSIC-UAM), Madrid, España.

## **INTRODUCCIÓN**

La enfermedad colestásica crónica se caracteriza por una acumulación de sales biliares a niveles hepatotóxicos<sup>1</sup>. Esta acumulación está asociada a la hiperplasia del ducto biliar, proceso en el que participan las células progenitoras hepáticas (HPC), actuando como segunda línea de defensa cuando la capacidad regenerativa de los hepatocitos ha quedado exhausta<sup>2</sup>. La señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) desempeña un papel relevante tanto en la regeneración hepática como en la respuesta celular al daño colestásico<sup>3</sup>, regulando el comportamiento de las HPC. Sin embargo, aún no está bien caracterizado el papel de las HPC en el daño colestásico ni su respuesta a sales biliares, descritas como señales pro-inflamatorias<sup>1,4</sup>, siendo este el objetivo principal de este estudio, así como analizar si la vía de señalización del EGF es un componente crítico de la respuesta de HPC a sales biliares.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se ha utilizado un modelo celular murino de HPC. El daño colestásico se ha simulado in vitro tratando HPC con combinaciones de sales biliares a diferentes concentraciones. Se ha estudiado la viabilidad y muerte celular, junto con la activación de vías de señalización y la regulación de la expresión génica mediante RT-qPCR. El papel de la vía del EGFR se ha analizado mediante co-tratamiento con ligandos del EGFR y/o tratamiento con un inhibidor del EGFR. Para los estudios de comunicación intercelular, se ha utilizado medio condicionado procedente de las HPC para tratar tanto a la línea de células estrelladas GRX murina como a macrófagos peritoneales murinos y se ha llevado a cabo un análisis proteómico.

## **RESULTADOS.**

Nuestros resultados muestran que algunas sales biliares pueden desencadenar un efecto citotóxico en HPC por un mecanismo dependiente del tipo de sal biliar y de su dosis. El EGF disminuye la citotoxicidad de las sales biliares en determinadas condiciones y actúa en sinergia con estas para promover una respuesta inflamatoria. Así pues, el tratamiento con sales biliares y EGF aumenta sinérgicamente la expresión de quimiocinas como Cxcl1, Cxcl2 e IL6, mientras que la inhibición del EGFR bloquea tanto su expresión como la señalización inflamatoria inducida por las sales biliares. Además, este co-tratamiento regula la activación del inflammasoma NLRP3 y consecuente activación de la caspasa 1 en HPC.

Para entender el impacto de esta respuesta de las HPC en la comunicación celular, se analizó su secretoma, y se comprobó que estaba enriquecido en reguladores inmunitarios y del TGF- $\beta$ . En consonancia con esto, el medio condicionado derivado de las HPC modula la activación y/o proliferación de las células estrelladas hepáticas; así como en la polarización de los macrófagos. Curiosamente, se observa un cambio drástico en los componentes del secretoma de las HPC tratadas con sales biliares y EGF.

## **CONCLUSIONES**

Este trabajo proporciona evidencias sobre la contribución de las HPC en los mecanismos patogénicos de la enfermedad colestásica, ya que participan en la inducción de la respuesta

inflamatoria, así como en la activación de las células estrelladas hepáticas y en la modulación del fenotipo de macrófagos peritoneales. También demostramos una contribución clave de la vía EGFR en estas.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Cannito, S., Milani, C., Cappon, A., Parola, M., Strazzabosco, M., & Cadamuro, M. (2018). Fibroinflammatory Liver Injuries as Preneoplastic Condition in Cholangiopathies. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3875. <https://doi.org/10.3390/ijms19123875>

Chen, J., Chen, L., Zern, M. A., Theise, N. D., Diehl, A. M., Liu, P., & Duan, Y. (2017). The diversity and plasticity of adult hepatic progenitor cells and their niche. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 37(9), 1260–1271. <https://doi.org/10.1111/liv.13377>

Lazcanoiturburu, N., García-Sáez, J., González-Corrales, C., Roncero, C., Sanz, J., Martín-Rodríguez, C., Valdecantos, M. P., Martínez-Palacián, A., Almalé, L., Bragado, P., Calero-Pérez, S., Fernández, A., García-Bravo, M., Guerra, C., Montoliu, L., Segovia, J. C., Valverde, Á. M., Fabregat, I., Herrera, B., & Sánchez, A. (2022). Lack of EGFR catalytic activity in hepatocytes improves liver regeneration following DDC-induced cholestatic injury by promoting a pro-restorative inflammatory response. *The Journal of Pathology*, 258(3), 312–324. <https://doi.org/10.1002/path.6002>

Wree, A., Eguchi, A., McGeough, M. D., Pena, C. A., Johnson, C. D., Canbay, A., Hoffman, H. M., & Feldstein, A. E. (2014). NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 59(3), 898–910. <https://doi.org/10.1002/hep.26592>

# ACTIVACIÓN DEL DESARROLLO FOLICULAR Y PRESERVACIÓN DE LA CALIDAD OVOCITARIA MEDIANTE UNA NUEVA TÉCNICA DE FRAGMENTACIÓN OVÁRICA IN VIVO EN UN MODELO PRECLÍNICO DE INSUFICIENCIA OVÁRICA PREMATURA

*Del Castillo LM<sup>1</sup>, Soriano MJ<sup>1</sup>, Galán R<sup>1</sup>, Fadon P<sup>2</sup>, Hidalgo, JJ<sup>3</sup>, Díaz-García C<sup>1,2</sup>*

*1) Grupo de Investigación en Medicina reproductiva, IIS La Fe. 2) EGA Institute for Women's Health, University College London. 3) Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología, Universitat de València*

## INTRODUCCIÓN

La insuficiencia ovárica prematura (del inglés, POI) se caracteriza por el cese de la función ovárica en mujeres jóvenes, desencadenando esterilidad precoz en la mayoría de pacientes (De Vos et al., 2010). Las técnicas de fragmentación ovárica inducen la activación de los folículos quiescentes mediante la disrupción de la ruta Salvador-Hippo-Warts (Kawamura et al., 2013), aumentando potencialmente las probabilidades de obtener un mayor número de ovocitos, y con ello la tasa de gestación y recién nacido (Díaz-García et al., 2022). Sin embargo, su abordaje quirúrgico invasivo y costoso supone una gran limitación. Por ello, este trabajo pretende evaluar la eficacia de una nueva técnica menos invasiva para activar el desarrollo folicular in vivo, manteniendo la calidad de los ovocitos obtenidos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Sesenta ratonas C57BL/6 de 3 meses de edad fueron distribuidas en 6 grupos: control o POI sin intervención (CT-0 o POI-0), control o POI con 15 y 22 punciones ováricas (CT-15, CT-22, POI-15 y POI-22). La condición POI se estableció administrando intraperitonealmente quimioterapia (120mg/kg de ciclofosfamida y 12mg/kg de busulfán). Los grupos control recibieron el vehículo (suero salino). Pasadas 3 semanas, los ovarios de los grupos a intervenir fueron puncionados con una aguja 30G. A las 6 horas se extirparon los ovarios de 4 ratonas/grupo para evaluar la activación folicular por Western-Blot e inmunohistoquímica. Tras 3 semanas de las intervenciones, 6 ratonas/grupo recibieron un ciclo de estimulación ovárica, recogiendo los ovarios y ovocitos 16 horas tras la ovulación. Se realizó el recuento de las poblaciones foliculares y análisis de proliferación celular en los ovarios, y se analizó la calidad de los ovocitos metafase-II (MII) ovulados (especies reactivas de oxígeno -ROS-, distribución de mitocondrias, huso meiótico y alineamiento cromosómico) por microscopía confocal y FRET.

## RESULTADOS

Los grupos puncionados mostraron un incremento del ratio proteico de p-mTOR/mTOR y p-AKT/AKT, además de YAP, a las 6 horas tras las intervenciones, siendo especialmente mayor en los grupos POI. La activación de folículos primordiales se validó con la localización de FOXO3a, observando un aumento significativo de folículos primordiales con FOXO3a citoplasmático en los grupos CT-15(p<0.001), CT-22(p<0.001), POI-15(p=0.003), y POI-22(p=0.005). A las 3 semanas de la operación, el porcentaje de folículos en crecimiento fue mayor en todos los grupos intervenidos en comparación con sus respectivos controles, siendo significativamente superior en CT-



15( $p < 0.001$ ), CT-22( $p < 0.001$ ) y POI-15( $p = 0.015$ ). Además, se observó un mayor porcentaje de células de la granulosa positivas para el factor de proliferación Ki67 en CT-15( $p < 0.001$ ), POI-15( $p = 0.018$ ), y POI-22( $p = 0.035$ ). El número de ovocitos MII ovulados fue significativamente superior en los grupos intervenidos CT-15( $p = 0.038$ ), CT-22( $p = 0.044$ ), POI-15( $p = 0.039$ ), y POI-22( $p = 0.045$ ), los cuales mostraron un porcentaje de ROS similar a los grupos no puncionados. Las punciones ováricas tampoco alteraron la distribución mitocondrial, formación del huso meiótico y alineamiento cromosómico de los ovocitos.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

La nueva técnica no invasiva de fragmentación ovárica activa el crecimiento de los folículos quiescentes y mantiene la calidad ovocitaria tanto en los grupos control como en el modelo POI, destacando como una prometedora solución para el tratamiento de la menopausia precoz.

## **BIBLIOGRAFÍA**

De Vos, M., Devroey, P., & Fauser, B. C. (2010). Primary ovarian insufficiency. *The Lancet*, 376(9744), 911–921. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60355-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60355-8)

Kawamura, K., Cheng, Y., Suzuki, N., Deguchi, M., Sato, Y., Takae, S., Ho, C. H., Kawamura, N., Tamura, M., Hashimoto, S., Sugishita, Y., Morimoto, Y., Hosoi, Y., Yoshioka, N., Ishizuka, B., & Hsueh, A. J. W. (2013). Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(43), 17474–17479. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312830110>

Díaz-García, C., Herraiz, S., Pamplona, L., Subirá, J., Soriano, M. J., Simón, C., Seli, E., & Pellicer, A. (2022). Follicular activation in women previously diagnosed with poor ovarian response: a randomized, controlled trial. *Fertility and sterility*, 117(4), 747–755. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.12.034>

# OBESITY AS A RISK FACTOR FOR DEMENTIA AND ALZHEIMER'S DISEASE: THE ROLE OF LEPTIN

*Jorge Salvador Méndez Hurtado*

*Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla*

## **INTRODUCCIÓN**

La obesidad, una creciente preocupación global, se atribuye a diversas causas, incluyendo estilo de vida, estrés, nutrición, antecedentes genéticos y falta de ejercicio. En este contexto, el tejido adiposo blanco no solo almacena el exceso de energía, sino que también desencadena alteraciones endocrinas al secretar adipocinas con efectos a nivel sistémico y en el sistema nervioso central. La obesidad se vincula con déficits cognitivos, deterioro de la plasticidad sináptica y un menor volumen cerebral, aumentando así el riesgo de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA).

El estado inflamatorio crónico asociado a la obesidad desregula sistemas homeostáticos, contribuyendo al desarrollo de diversas enfermedades, incluidas aquellas relacionadas con la neurodegeneración. Este proceso conlleva un aumento de adipocinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  y leptina) y una disminución de adipocinas antiinflamatorias como la adiponectina. Esta revisión se centra en el papel de la leptina.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se revisa la literatura científica para analizar el papel de la leptina en la obesidad y la demencia.

## **RESULTADOS y DISCUSIÓN**

La leptina, una adipocina elevada en la obesidad, ejerce efectos en diversas regiones del SNC, incluyendo la corteza cerebral y el hipocampo. Su receptor, LepRb, se expresa en neuronas glutamatérgicas, GABAérgicas y dopaminérgicas, sugiriendo su implicación en procesos de potenciación a largo plazo, depresión a largo plazo y motivación alimentaria. La activación de la Janus quinasa 2 (JAK2) y sus vías de señalización intracelular (STAT3, Akt, ERK y STAT5) son eventos bioquímicos asociados a la unión de la leptina a su receptor. En el ámbito de aprendizaje y memoria, la plasticidad sináptica y los receptores NMDA son cruciales. La leptina mejora la eficiencia de la transmisión sináptica excitadora en el hipocampo, influyendo en la conversión de la potenciación a corto plazo en potenciación a largo plazo. En modelos de ratón transgénicos de EA, la leptina optimiza el rendimiento en tareas cognitivas. Esta revisión busca abordar los mecanismos de resistencia a la leptina asociados al aumento del riesgo de EA. Factores genéticos, alteraciones en el transporte de leptina hacia el cerebro, desensibilización de receptores y mecanismos intracelulares e inflamatorios son considerados. La desregulación de moléculas intracelulares como SOCS3, PTP1B y TCPTP, así como la presencia de inflamación relacionada con la obesidad, contribuyen a la resistencia a la leptina. La relación entre EA y obesidad se vincula a factores genéticos, acumulación de placas  $\beta$ -amiloide y disfunción mitocondrial. La resistencia a la leptina emerge como un componente clave en esta conexión, y estudios sugieren que bajos niveles

de leptina están asociados a mayor riesgo de deterioro cognitivo y EA. La disfunción de las vías de señalización de leptina puede promover procesos neurodegenerativos

### **CONCLUSIONES**

En conclusión, la obesidad como factor de riesgo para EA demanda la identificación de marcadores preventivos y la implementación de programas integrales de prevención. La comprensión de las complejas interacciones entre la leptina, la obesidad y la neurodegeneración ofrece perspectivas para abordar esta preocupante asociación y desarrollar estrategias efectivas de prevención.

### **BIBLIOGRAFÍA**

La exposición oral se basa en un estudio de revisión realizado por el departamento de Bioquímica Médica, Biología Molecular e Inmunología de la Universidad de Sevilla, del cual soy alumno interno desde hacer dos años:

Flores-Cordero JA, Pérez-Pérez A, Jiménez-Cortegana C, Alba G, Flores-Barragán A, Sánchez-Margalet V. Obesity as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease: The Role of Leptin. *Int J Mol Sci.* 2022 May 6;23(9):5202. doi: 10.3390/ijms23095202.

# La inhibición de la Integrina $\beta 1$ como estrategia terapéutica para las metástasis pulmonares no angiogénicas

*Torre-Cea I, Guerra-Paes E, Berlana-Galán P, Acedo-Logroño P, Cáceres-Calle D, Carrancio-Salán P, Carrera-Aguado I, Marcos-Zazo L, Sánchez-Juanes F, Muñoz-Félix JM*

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Salamanca (USAL) e Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)*

## **INTRODUCCIÓN**

Para que el cáncer se desarrolle es preciso que las células tumorales dispongan de los nutrientes necesarios y se encuentren en un microambiente propicio para ello. Un punto clave en esto es la vascularización tumoral, donde encontramos dos estrategias: la angiogénesis, con la formación de nuevos vasos sanguíneos; y las que engloban distintos mecanismos que evitan la formación de vasos, por ejemplo, la cooptación vascular (VCO). En la VCO las células tumorales secuestran los vasos sanguíneos preexistentes en el tejido afectado; puede surgir de forma intrínseca o como forma de resistencia ante determinadas terapias (normalmente anti-angiogénicas). El principal problema de los tumores no angiogénicos es que disminuye la efectividad de la quimioterapia, son más invasivos y en consecuencia presentan un peor pronóstico. Por esta razón, el objeto de estudio de este trabajo consiste en fomentar el predominio de tumores angiogénicos: tratamos de inhibir la adhesión celular a los vasos que ocurre mediante integrinas, paso imprescindible en el desarrollo de la VCO. Para ello, aplicamos un tratamiento con ATN-161 que interfiere en la función de un tipo de integrinas  $\beta 1$  y observamos qué cambios se producen tanto en la vasculatura, como en el microambiente tumoral.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Los experimentos se basaron en modelos in vivo de metástasis pulmonares en ratones BALB/c, a los que se les introdujo una línea murina de células tumorales 4T1. A estos ratones se les trató con ATN-161 para probar su efecto angiogénico. Para ello, se observaron cambios en tumor utilizando técnicas inmunohistoquímicas para Integrina  $\beta 1$ , GLUT-1, VEGF, CD206 y CD8; y tinciones como Tricrómico de Masson y Weigert-Van Gieson.

Finalmente, se analizaron las imágenes tomadas al microscopio óptico con el programa ImageJ y se realizaron análisis estadísticos, t-student y chi-cuadrado, con GraphPad Prims 9.0.

## **RESULTADOS.**

Un análisis general de la maduración de la matriz tumoral indicó que el tiempo del experimento es escaso para que exista deposición de colágeno I.

Por otra parte, el análisis de Integrina  $\beta 1$ , mostró que la expresión de esta proteína en muestras placebo era intratumoral, mientras que en muestras tratadas con ATN-161 se desplazaba a la periferia tumoral. El análisis de patrones de elastina y expresión de Glut-1 da como resultado que en muestra tratadas con el fármaco hay más área de tumores angiogénicos y se desarrollan en condiciones hipóxicas. Además, los niveles de VEGF, son mayores con ATN-161.

Por último, la infiltración de macrófagos M2 es menor en muestras a las que se le aplica ATN-161. Mientras que si tenemos en cuenta los linfocitos T citotóxicos la presencia en ambos tipos de muestras es similar, ligeramente mayor en muestras ATN-161.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

El ATN-161 genera un cambio lento desde el fenotipo no angiogénico al desarrollo angiogénico inmaduro. Se inicia intratumoralmente, impulsado por la hipoxia y gracias a la comunicación celular por VEGF. El perfil inmunológico muestra que en cierta medida afecta al microambiente tumoral, pudiendo dirigir el desarrollo cancerígeno a un mejor pronóstico. Todo ello puede servir de marcador para identificar el mecanismo vascular, al igual que las integrinas  $\beta 1$ .

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Cuypers, A., Truong, A.-C. K., Becker, L. M., Saavedra-García, P., & Carmeliet, P. (2022). Tumor vessel co-option: The past & the future. *Frontiers in oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.965277>

Jahangiri, A., Aghi, M. K., & Carbonell, W. S. (2014). B1 integrin: Critical path to antiangiogenic therapy resistance and beyond. *Cancer Research*, 74(1), 3–7. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-13-1742>

Ollauri-Ibáñez, C., Ayuso-Íñigo, B., & Pericacho, M. (2021). Hot and cold tumors: Is endoglin (CD105) a potential target for vessel normalization? *Cancers*, 13(7), 1552. <https://doi.org/10.3390/cancers13071552>

Pezzella, F., & Ribatti, D. (2022). Vascular co-option and vasculogenic mimicry mediate resistance to antiangiogenic strategies. *Cancer Reports*, 5(12). <https://doi.org/10.1002/cnr2.1318>

# NOTCH4 en la diferenciación de los macrófagos asociados a tumor

*David Fernández Díaz, Susana López López, Eva María Monsalve Argandoña, José Javier García-Ramírez y María José Martínez Díaz-Guerra*

*Universidad de Castilla-La Mancha*

## **INTRODUCCIÓN**

Los macrófagos asociados a tumor o TAMs constituyen la principal población de células del sistema inmunitario presente en diferentes tipos de tumores. Son macrófagos con un fenotipo característico que favorecen la supervivencia y la progresión de las células tumorales. Esto es así ya que producen moléculas como VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), y metaloproteasas que permiten procesos como la angiogénesis o metástasis, respectivamente, citoquinas inmunosupresoras como el TGF $\beta$ -1 o enzimas como la Arginasa1 que degrada al aminoácido arginina, necesario para el correcto funcionamiento de los linfocitos T. Además expresan marcadores de superficie como Cd274 (PDL-1) que inhibe la acción de los linfocitos T.

Por otro lado, los TAMs poseen numerosos receptores para llevar a cabo sus funciones. Uno de ellos es el receptor transmembrana NOTCH4 que pertenece a la familia de los receptores NOTCH implicados en el desarrollo embrionario. Estos receptores también poseen funciones en las células del sistema inmunitario como, por ejemplo, regulando la inflamación. Cabe destacar que para que NOTCH4 lleve a cabo sus funciones es necesario que se una a su ligando correspondiente y se produzcan unos cortes proteolíticos que liberen el dominio intracelular de NOTCH4 y este se transloque al núcleo, donde modificará la expresión de otros genes.

El objetivo de este trabajo es estudiar el papel de NOTCH4 en la diferenciación de los macrófagos a un fenotipo TAM.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Para este trabajo se han utilizado macrófagos murinos peritoneales extraídos de ratones de la cepa C.57BL/6 que se han cultivado en medio condicionado producido por las células de melanoma de ratón B16F10 (CM-B16F10).

Se han llevado a cabo transfecciones celulares con un vector de sobreexpresión de NOTCH4 y siARNs de NOTCH4.

Se ha analizado la expresión proteica y génica mediante Western Blot y PCR cuantitativa, respectivamente.

#### **RESULTADOS.**

-Con el medio tumoral aumenta la expresión de NOTCH4 y también incrementa la expresión de genes característicos de los TAMs como VEGF, MMP2, PDL-1 o TGF $\beta$ -1.

-La sobreexpresión o inhibición de NOTCH4 afecta a la expresión de estos genes.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

-El medio tumoral induce el procesamiento de NOTCH4 y, por tanto, su traslocación al núcleo.

-NOTCH4 parece ser necesario para que los macrófagos adquieran el fenotipo TAM y lleven a cabo sus funciones.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. (2008) The Yin- Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunology Reviews*. 222: 155-161.

Balkwill FR. (2012) The chemokine system and cancer. *Journal of Pathology*. 226 (2): 148-157.

Guo C, Buranych A, Sarkar D, Fisher PB, Wang XY. (2013) The role of tumor-associated macrophages in tumor vascularization. *Vascular Cell*. 5 (1): 20.

López-López S, Romero de Ávila MJ, Hernández de León NC, Ruiz-Marcos F, Baladrón V, Nueda ML, Laborda J, García-Ramírez JJ, Monsalve EM, Díaz-Guerra MJM. (2021) NOTCH4 exhibits anti-inflammatory activity in activated macrophages by interfering with Interferon- $\gamma$  and TLR4 signaling. *Frontiers in Immunology*. 12

Marigo I, Dolcetti L, Serafini P, Zanovello P, Bronte V. (2008) Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid derived suppressor cells. *Immunology Reviews*. 222: 162-179.

Steinbuck MP, Winandy S. (2018) A Review of Notch Processing With New Insights Into Ligand-Independent Notch Signaling in T-Cells. *Frontiers in Immunology*. 9.

# Estudio de la interacción de radiación con nanopartículas de oro en geant4 para mejorar la eficiencia de las terapias contra cáncer basadas en protones

*Brandon Santiago Guillazaca Gonzalez, Nuria Fuster Martínez*

*Universidad de Valencia*

## **INTRODUCCIÓN**

En el marco de la radioterapia de protones, esta investigación se enfoca en la interacción entre la radiación y las nanopartículas de oro (AuNPs) con el objetivo de optimizar la eficiencia de los tratamientos contra el cáncer. La principal problemática es la minimización de los efectos secundarios en tejido sano durante la radioterapia, al mismo tiempo se busca maximizar la eficiencia de la radiación con una distancia de recorrido de unas cuantas micras en áreas superficiales y áreas externas de las células tumorales. La importancia de las AuNPs tiene como finalidad desarrollar propiedades de biocompatibilidad con los sistemas biológicos el cual resalta una aplicación prometedora al actuar como amplificadores selectivos de la radiación en los tumores demostrando ser materiales radiosensibilizadores. El propósito fundamental radica en profundizar la comprensión de las interacciones entre las AuNPs y la radiación de protones, así como en la optimización de los parámetros y características para implementarlas de manera efectiva en protonterapia.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**



La metodología consistió en un proceso de simulación realistas por medio de la herramienta Geant4, de esta manera se explora los procesos físicos a nivel nanométrico de la interacción radiación-materia. Se focaliza en la interacción entre un sistema biológico (agua), AuNPs y la incidencia de un haz de protones, los cuales tienen que seguir un principio fundamental físico que se describe como pico de Bragg. El propósito de la validación de eventos realistas en el software asegura la fiabilidad de la investigación, donde se exploró la evolución de la radiación en función de la distancia, la deposición de dosis por cada protón y además la eficiencia de la protonterapia con la dependencia del tamaño de las AuNPs.

## **RESULTADOS.**

Los resultados de la simulación con Geant4 revelan una influencia notable de las AuNPs en la distribución de la dosis durante la protonterapia. La representación precisa de las interacciones entre las AuNPs y la radiación proporciona una visión clara de su impacto en la eficiencia del tratamiento oncológico. En particular, se destaca la importancia crítica del tamaño de las AuNPs, ya que la comparación entre nanopartículas más pequeñas (50nm) y nanopartículas más grandes (100nm y 200nm) demostrando una clara disparidad en la eficiencia de la mejora de la dosis absorbida. Las nanopartículas más pequeñas exhiben una capacidad superior para potenciar la dosis localizada, subrayando la necesidad de consideraciones meticulosas en la selección de agentes intratumorales.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

La simulación detallada con Geant4 arrojó resultados prometedores sobre la interacción entre AuNPs y la radiación de protones en el contexto de la protonterapia. La meticulosa exploración de las complejas interacciones nanométricas proporcionó una comprensión clara de cómo las AuNPs pueden influir en la distribución de la dosis durante los tratamientos oncológicos describiendo un material radiosensibilizador. Este hallazgo presenta una oportunidad significativa para optimizar la aplicación de las AuNPs en la protonterapia, con el potencial de reducción de efectos secundarios a tejidos circundantes, pero mejorar la eficacia de la protonterapia que sea mucho más focalizada en un punto de interés a las células tumorales.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Cho, S. H. (2005). Estimation of tumour dose enhancement due to gold nanoparticles during typical radiation treatments: A preliminary Monte Carlo study. *Physics in Medicine and biology*, 50(15), N163-N173. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/50/15n01>.

Engels, E., Bakr, S., Bolst, D., Sakata, D., Li, N., Lazarakis, P., MacMahon, S. J., Ivanchenko, V., Rosenfeld, A. B., Incerti, S., Kyriakou, I., Emfietzoglou, D., Lerch, M. L. F., Tehei, M., Corde, S., & Guatelli, S. (2020). Advances in modelling gold nanoparticles radiosensitization using new Geant4-DNA physics models. *Physics in Medicine and Biology*, 65(22), 225017. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/abb7c2>.

Tran, H. N., Karamitros, M., Ivanchenko, V. N., Guatelli, S., MacKinnon, S., Murakami, K., Sasaki, T., Okada, S., Bordage, M., Fransis, z., Bitar, Z. E., Bernal, M. A., Shin, J., Lee, S. B., Barberet, P., Tran, T. Q., Brown, J. M., Tang, H., & Incerti, S. (2016). GEANT4 Monte Carlo simulation of absorbed dose and radiolysis yields enhancement from a gold nanoparticle under MEV proton irradiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Internations with Materials and Atoms*, 373, 126-139. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2016.01.017>

# MRNA LOCALISATION: A SUBCELLULAR MECHANISTIC TARGET TO REDUCE NEOVASCULARISATION

Moreno A.

*Wellcome-Wolfson Institute for Experimental Medicine at Queen's University*

## **INTRODUCTION**

Neovascularization, the formation of new blood vessels from preexisting ones, plays a pivotal role in diseases such as diabetic retinopathy, atherosclerosis, and cancer. Existing therapies face limitations, prompting the need for innovative strategies.

Tip cells, crucial for vessel development, exhibit subcellular mRNA polarization, vital for local translation and protein function during migration. This study focuses on the mislocalisation of RAB13 and NET1 mRNAs, linked to actin remodeling and filopodia formation, key processes in angiogenesis.

## **MATERIALS AND METHODS.**

This research project aims to disrupt mRNA localisation using Antisense Oligonucleotides (ASOs), synthetic deoxynucleotides which, in this case bind to a region at the 3' UTR of mRNA sequences, known for its role in mRNA polarization, and inhibit its action.

For assessing the mislocalisation of these mRNAs, we have used smFISH and observed the cells with a widefield fluorescence microscope and analyse its mRNA localisation with Fiji ImageJ Plugin. We also have studied anti-angiogenic properties of ASOs treatment using the MIMETAS OrganoPlate® 3-lane 64.

To assess the significance of observed differences in mRNA localization and their effects on angiogenesis, statistical analyses were conducted using the student's t-test. The t-test was chosen for its suitability in comparing means between two groups and its ability to detect statistically significant differences.

Quantitative measurements from experiments, such as mRNA localization and angiogenic parameters, underwent t-test analyses to compare control and treatment groups. Differences with a p-value less than 0.05 were considered statistically significant.

## **RESULTS.**

Results indicate successful mislocalization of RAB13 and NET1 mRNA, with a demonstration of a reduction in filopodia formation and vessel maturation, suggesting the potential of mRNA mislocalization ASOs as therapeutic tools to control undesirable blood vessel formation

## DISCUSSION

The successful mislocalisation of RAB13 and NET1 mRNA using Antisense Oligonucleotides (ASOs) presents a significant advancement in our quest to modulate neovascularization. The observed reduction in filopodia formation and vessel maturation underscores the potential therapeutic impact of manipulating mRNA localisation.

This study provides insights into a promising avenue for developing targeted interventions in neovascularization-related diseases.

## REFERENCES

1. Gagliardi, M., & Ashizawa, A. T. (2021). The challenges and strategies of antisense oligonucleotide drug delivery. *Biomedicines*, 9(4), 433. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040433>

2. Costa, G., Bradbury, J. J., Tarannum, N., & Herbert, S. P. (2020). RAB13 mRNA compartmentalisation spatially orients tissue morphogenesis. *The EMBO Journal*, 39(21), e106003. <https://doi.org/10.15252/emj.2020106003>

3. Mattila, P. K., & Lappalainen, P. (2008). Filopodia: Molecular architecture and cellular functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(6), 446-454. <https://doi.org/10.1038/nrm2406>

4. Herbert, S. P., & Costa, G. (2019). Sending messages in moving cells: mRNA localization and the regulation of cell migration. *Essays in Biochemistry*, 63(5), 595-606. <https://doi.org/10.1042/EBC20190009>

# ¿Podemos aliviar el dolor lumbar con ejercicio? Efectos de una maniobra isométrica sobre la biomecánica lumbopélvica y los umbrales de dolor

Zahim Rafael Escamilla-Ugarte<sup>1</sup>, Pilar Alberola-Zorrilla<sup>1</sup>, Victoria Juana Díaz- Benito<sup>2</sup>, Daniel Sánchez-Zuriaga<sup>1</sup>

Universitat de València, Más que Fisio Valencia

## INTRODUCCIÓN

El dolor lumbar inespecífico es uno de los grandes retos globales en salud pública debido a su alta prevalencia y al impacto económico de su discapacidad asociada. Los pacientes con dolor lumbar inespecífico muestran alteraciones tanto motrices como sensoriales. El ejercicio isométrico causa disminución de la sensibilidad al dolor en múltiples cuadros de origen musculoesquelético, y podría mejorar también los patrones de movimiento y activación muscular de este tipo de pacientes. Sus efectos, sin embargo, nunca se han estudiado en pacientes con dolor lumbar.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

En el estudio participaron 16 pacientes con dolor lumbar inespecífico y 16 participantes sin dolor. Se planteó una intervención isométrica con mediciones antes y después de la intervención: (1) Umbral de dolor a la presión en tres regiones anatómicas, medido mediante algometría; (2) Actividad del erector de la columna mediante electromiografía de superficie; y (3) Análisis cinemático de los patrones de movimiento de la región lumbopélvica. Se analizaron las variables algométricas mediante un ANOVA factorial mixto, de tres vías. Las variables de EMG y cinemática fueron comparadas mediante un ANOVA de dos vías. El nivel de significación para todas las pruebas se estableció en 0,05.

## RESULTADOS.

El ejercicio isométrico redujo de manera significativa los umbrales de dolor a la presión tanto en el grupo de personas con dolor lumbar como en el grupo de personas sin dolor ( $p < 0,01$ ). En el grupo con dolor lumbar los niveles de dolor también resultaron significativamente menores ( $p < 0,01$ ). En los patrones de actividad EMG y movimiento lumbopélvico se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo en el que los participantes mantenían grados máximos de flexión lumbar ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los mecanismos por los que el ejercicio podría ejercer una función analgésica se han explicado en diversos estudios a partir de una modulación de los sistemas opiáceos endógenos de dolor. No obstante, a día de hoy, no se han estudiado en sujetos con dolor lumbar los factores sensoriales ni biomecánicos asociados al comportamiento muscular que pudieran contribuir a la potenciación del efecto del ejercicio. Según nuestros resultados, el ejercicio de contracción isométrica genera hipoalgesia inducida por el ejercicio tanto a nivel local como distal en sujetos con dolor lumbar y en sujetos libres de dolor:

- El efecto es más pronunciado en las regiones corporales implicadas en el ejercicio que a nivel remoto en estructuras que se mantuvieron pasivas durante la prueba.
- Es posible que existan alteraciones de la biomecánica lumbopélvica y el rango de movimiento articular asociadas al efecto hipoalgésico en ambos grupos.

Futuros estudios sobre este tema podrían valorar otros componentes del dolor o de la salud en general que permitieran explicar la variación de la respuesta entre los sujetos. Estos estudios podrían aportar valores de referencia de dichas variables en sujetos con dolor lumbar, y de esta manera ayudarían a determinar la prescripción más efectiva de este tipo de técnicas, que permita individualizar el abordaje del paciente.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Allegri, M., Montella, S., Salici, F., Valente, A., Marchesini, M., Compagnone, C., Baciarello, M., Manfredini, M. E., & Fanelli, G. (2016). Mechanisms of low back pain: a guide for diagnosis and therapy. *Spine Journal*, 5(10):15-30.
2. Arendt-Nielsen, L., & Yarnitsky, D. (2009). Experimental and clinical applications of quantitative sensory testing applied to skin, muscles and viscera. *The Journal of Pain*, 10(6): 556–572.
3. Biviá-Roig, G., Lisón, JF. & Sánchez-Zuriaga, D. (2019). Determining the optimal maximal and submaximal voluntary contraction tests for normalizing the erector spinae muscles. *Peer Journal*, 7(2):78-81.
4. Gajjar, H., Titze, C., Hasenbring, M. I., & Vaegter, H. B. (2017). Isometric Back Exercise Has Different Effect on Pressure Pain Thresholds in Healthy Men and Women. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, 18(5), 917–923. <https://doi.org/10.1093/pm/pnw176>

# TITLE: STUDY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN SAMPLES AND ISOLATED STRAINS OF CONVENTIONALLY GROWN LEAFY VEGETABLES AND STRAWBERRIES

*Yolanda Domínguez Núñez (tutors: Ana Isabel Jiménez Belenguer and M<sup>a</sup> Ángeles Castillo López)*

*Universitat Politècnica de València (UPV)*

## **INTRODUCTION AND AIMS**

Antibiotic-Resistant Bacteria (ARB) is a major problem due to its rapid spread in the community. Therefore, the detection of multi-resistant bacteria in vegetables for human consumption constitutes a key point to control its transmission.

The resistance mechanisms that bacteria have developed against the action of antibiotics are diverse. This resistance may be intrinsic to the bacteria or may have been acquired by incorporating external genetic material through bacterial conjugation, transduction or transformation processes.

The study of the presence of Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in bacteria isolated from food is relevant to try to prevent infections that are difficult to treat.

These are the reasons why this study focused on achieving the following aims. Main aim: evaluation of the presence of bacteria with antibiotic resistance in conventionally grown vegetables from stores in the city of Valencia.

### **Specific aims:**

1. Isolation of bacteria potentially resistant to carbapenems and 3rd generation cephalosporins.
2. Identification of the isolates using biochemical (API strip) and molecular techniques (sequencing).
3. Analysis of the antibiotic resistance of isolated strains using the disc-plate antibiogram assay.
4. Detecting ARGs: beta-lactams (blaTEM, blaSHV and blaCMY-2), carbapenems (blaIMP, blaVIM, blaOXA-48 and blaKPC) and quinolones (QnrA, QnrB and QnrS) by multiplex PCR.

## **MATERIALS Y METHODS.**

The first step was collecting vegetable samples (lettuce, spinach, strawberries, red and white cabbage) from different stores in Valencia.

Next, we tried to isolate microorganisms with resistance to 3rd generation cephalosporins and carbapenems. For that, 10 g of each of the samples were incubated in Buffered Peptone Water (APT) and Tryptic Soy Broth (TSB) culture broths supplemented with the antibiotics cefotaxime (CTX) and meropenem (MEM) respectively, in addition to Vancomycin (VAN). After

incubation during 24h at 37°C, the samples were seeded by triple streak on MacConkey (MC) and mSuperCARBA (SC) plates from which 5 colonies were selected, isolated and reseeded on Plate Count Agar (PC) plates.

From the isolated colonies, we proceeded with their characterization (oxidase, catalase tests and gram stain). Then, the strains of interest were identified using API 20E strip and sequencing. Furthermore, their resistance to antibiotics was tested using the disc-plate antibiogram technique and, after DNA extraction, the presence of ARGs was detected by multiplex PCR with specific primers.

## **RESULTS.**

A total of 239 strains were isolated from 34 vegetable samples collected. From them, only 28 presented characteristics of interest (oxidase negative, catalase positive and gram negative) and these were identified by API strip, highlighting the detection of *Stenotrophomonas maltophilia* (65%) and *Acinetobacter* spp. (27%). Two *Burkholderia cepacia* strains (7%) were isolated too. Next, the identification of *Acinetobacter* spp. strains was confirmed by sequencing the 16S ribosomal RNA gene, with the identification coinciding between both methods, although the molecular method (sequencing) was better to specifically identify the species.

With the disc-plate antibiogram method, 14 different resistance profiles were detected. We observed that all strains showed resistance to 3 or more of the antibiotics tested and all were resistant to penicillins.

According to the detection of ARGs, the detection of carbapenem resistance genes stood up from the rest. But the results obtained in this study show that the presence of multidrug resistant bacteria in vegetables is not as abundant as in other food products.

In this study, we analyzed the influence of some factors, such as the type of vegetable and the season of sampling, to investigate if these factors affected the patterns of antibiotic resistant bacteria. Greater resistance was observed in strains isolated in autumn compared to winter. And, in general, the resistance profiles observed were similar in most of the vegetables analyzed, with the exception of white cabbage isolates which only showed resistance to penicillins.

## **DISCUSSION / CONCLUSIONS**

- The presence of multiresistant pathogenic bacteria in conventionally grown vegetables was not predominant. Although the detection of opportunistic bacteria (*Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter* spp.) with intrinsic and acquired antibiotic resistance was considerable. For this reason, consumption of vegetables without adequate prior washing may pose a risk for immunocompromised people leading to an increase in complicated nosocomial infections because of the ineffectiveness of many of the antibiotics used as first-line treatment.

- The identification methods used (biochemical API strip test and 16S rRNA gene sequencing) coincided in their identification, although the molecular technique has a greater precision.



- The presence of ARB indicates that vegetables are a reservoir of ARGs, constituting a source of expansion of antibiotic resistance towards other bacteria. In consequence, the results obtained raise the need to carry out epidemiological surveillance of bacteria with antibiotic resistance in food to establish prevention measures.

#### **BIBLIOGRAPHY**

- CAPITA, R. & ALONSO-CALLEJA, C. (2013). Antibiotic-resistant bacteria: A challenge for the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(1), 11-48. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519837>
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) (2014). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24.
- JIMÉNEZ-BELENGUER, A. I., FERRÚS, M. A., HERNÁNDEZ, M., GARCÍA-HERNÁNDEZ, J., MORENO, Y. & CASTILLO, M. Á. (2023). Prevalence and Characterization of Beta-Lactam and Carbapenem-Resistant Bacteria Isolated from Organic Fresh Produce Retailed in Eastern Spain. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(2), 387. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020387>
- MOJICA, M. F., HUMPHRIES, R., LIPUMA, J. J., MATHERS, A. J., RAO, G. G., SHELBURNE, S. A., FOUTS, D. E., VAN DUIN, D. & BONOMO, R. A. (2022). Clinical challenges treating *Stenotrophomonas maltophilia* infections: An update. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 4(3), dlac040. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac040>

# DESIGN OF NEURONAL NETWORKS ON PDMS

*López Cuesta T.X, Soriano J., Haeb A., Tornero Prieto D.*

*Universitat de Barcelona, Universidad Alfonso X El Sabio*

## INTRODUCTION

The use of primary neuronal cultures from rodents on flat surfaces often fails to resemble the cellular activity of the human brain, since they show synchronous activity very different from the variety of nervous impulses that our neurons present. The objective of this experiment is the design of neuronal networks on PDMS, in order to achieve an in vitro model that mimics neuronal activity more similar to the human one, resembling its physiological and pathological conditions of the CNS and the subsequent recording of its activity.

## MATERIALS AND METHODS.

1. Bioengineering: we originated topographical designs with PDMS (silicone-type polymer), with the consequent creation of a desired pattern. The topographic patterns will be captured on the PDMS, using a negative pattern as a original mold. The PDMS will be added over glass covers and inside 4 well dish.
2. Cell culture: we obtained cortical neurons from rats embryos. We performed dissection of embryos of rat, extracted the cortex and seeded the neurons over the previously prepared PDMS.
3. Calcium imaging: in order to analyze the growth and behaviour of the neurons, we used genetically encoded calcium indicators (GCaMP6s), using adenovirus as a vector. This plasmid is a synthetic fusion of three domains: a green fluorescence protein (GFP), calmodulin (CaM) and M13 (a peptide sequence from myosin light-chain kinase). When calcium is present in the medium, CaM change its conformation and binds to M13, deprotoning GFP which turns anionic and provoke fluorescence.

When neurons are excited, calcium channels will open and the amount of calcium will increase inside the cytoplasm. Calcium from the endoplasmic reticulum and mitochondria also is freed into the cytosol. We will be able to measure its frequency and intensity thanks to the use of a fluorescence microscope.

We incubated the cells with the plasmid and after a few days, we analyzed with the fluorescence microscope and started recording the wells.

## **RESULTS.**

10 minute videos were taken from 3 PDMS patterns corresponding to triangles, squares and rhombuses. We could appreciate slightly connected neurons all over the well, firing spontaneously at different moments because of their immaturity and the obstacles (physiological patterns) we added. The main example shown in the poster corresponds to rhombuses, with a concentration of 1/8 cortex in the day in vitro 7.

We analyzed the results using NetCal, a software run in Matlab, and selected 10 random neurons as our regions of interest (ROI) so fluorescence intensity analysis could be performed.

The first figure shows us every time our neurons fire in a specific time (600 seconds). This graph is called Raster plot.

The second figure shows us the fluorescence traces, every fluorescence signal the 10 ROI have shown during the video we analyzed.

## **CONCLUSIONS.**

Comparing the results between the control and our experiment, we can appreciate that the functional and anatomical connections among the neurons seeded over the PDMS topographical patterns are more rich and diverse comparing to standard in vitro cultures, whose firing is more homogeneous and less spontaneous. It has also been possible to observe different patterns of neuronal activity peaks and beginnings of more varied random activity.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Soriano, J. (2023). Neuronal Cultures: exploring biophysics, complex systems, and medicine in a dish. *Biophysica*, 3(1), 181-202. <https://doi.org/10.3390/biophysica3010012>; Estévez-Priego, E., Moreno-Fina, M., Monni, E., Kokaia, Z., Soriano, J., & Tornero, D. (2023).

Long-term calcium imaging reveals functional development in HIPSC-derived cultures comparable to human but not rat primary cultures. *Stem Cell Reports*, 18(1), 205-219. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.11.014>;

Olives Verger, M. (2023a, junio 30). Dynamics and critical behaviour of neuronal cultures grown on topographical patterns with fractal structure.



# EFECTO DE LA AUSENCIA DE DMRT5 EN LOS SISTEMAS OXITOCINÉRGICOS Y VASOPRESINÉRGICOS

Amorós S<sup>1</sup>, Casado-Navarro R<sup>2</sup>, Serrano-Saiz E<sup>2</sup>, Madrigal P<sup>1\*</sup>, Jurado S<sup>1\*</sup>

1 Instituto de Neurociencias CSIC-UMH. San Juan de Alicante, Alicante, España 2 Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", CSIC-UAM. Madrid, España. Autores de correspondencia

## INTRODUCCIÓN

Los factores de transcripción Dmrt (Doublesex and Mab-3 Related Transcription factor) desempeñan un papel altamente conservado en la especificación de diferencias sexuales. Aunque se ha investigado extensamente su función en la diferenciación sexual del sistema nervioso de invertebrados, poco se sabe sobre su papel en el desarrollo de la diferenciación sexual del encéfalo de mamíferos. De los factores de transcripción Dmrt, el más estudiado es el gen Dmrt5/Dmrta2, el cual controla el desarrollo cortical en humanos y ratones, y mutaciones que resultan en pérdida de función se asocian a condiciones como microcefalia y lisencefalia. Este estudio explora la función de Dmrt5 en el desarrollo hipotalámico y su papel en la especificación de los sistemas de oxitocina y vasopresina.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Para analizar la función de Dmrt5, se ha utilizado un modelo de ratón carente del gen Dmrt5 (de aquí en adelante Dmrt5 KO, del inglés, knock-out). Para ello, se emplearon técnicas histológicas, tales como inmunohistoquímica, e inmunotinciones del cerebro completo empleando técnicas de transparentado de tejido (iDISCO+) y microscopía Light Sheet en 3D para analizar los circuitos hipotalámicos de oxitocina y vasopresina. Este estudio se centró en los principales núcleos oxitocinérgicos, como el núcleo paraventricular implicado en la conducta social, así como en la región retroquiasmática del hipotálamo, conocida por su implicación en la reproducción y regulación hormonal. Se compararon los niveles de vasopresina y oxitocina entre ratones Dmrt5 KO y animales control.

## RESULTADOS.

La eliminación del gen Dmrt5 (Dmrt5 KO) produjo una alteración en los circuitos hipotalámicos de vasopresina, mientras que no parece mostrarse la misma tendencia en los circuitos de oxitocina. Utilizando iDISCO+ y microscopía Light Sheet, se identificó una reducción significativa de los niveles de vasopresina en el área retroquiasmática tanto en hembras como en machos. Este resultado sugiere un impacto de Dmrt5 en la expresión de vasopresina en el hipotálamo, especialmente en áreas cruciales para la regulación hormonal y la reproducción.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los resultados revelan, por primera vez, la posible influencia de Dmrt5 en la formación de los circuitos hipotalámicos de vasopresina en mamíferos. La reducción de los niveles de vasopresina en la región retroquiasmática sugiere la importancia de Dmrt5 en la regulación de este neuropéptido esencial para mantener funciones homeostáticas básicas y comportamientos

complejos, como la interacción social. Estos hallazgos ofrecen nuevas perspectivas sobre cómo *Dmrt5* podría impactar la diferenciación sexual en el encéfalo de mamíferos afectando la especificación de circuitos sexualmente dimórficos, como el sistema vasopresinérgico.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Madrigal, M. P., & Jurado, S. (2021). Specification of oxytocinergic and vasopressinergic circuits in the developing mouse brain. *Communications biology*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02110-4>

Urquhart, J., Beaman, G. M., Byers, H., Roberts, N., Chervinsky, E., O'Sullivan, J., Pilz, D. T., Fry, A. E., Williams, S. G., Bhaskar, S. S., Khayat, M., Simanovsky, N., Shachar, I. B., Shalev, S. A., & Newman, W. G. (2016). *DMRTA2* (*DMRT5*) is mutated in a novel cortical brain malformation. *Clinical Genetics*, 89(6), 724-727. <https://doi.org/10.1111/cge.12734>

Bellefroid, É., Leclère, L., Saulnier, A., Keruzore, M., Sirakov, M., Vervoort, M., & De Clercq, S. (2013). Expanding roles for the evolutionarily conserved DMRT sex transcriptional regulators during embryogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(20), 3829-3845. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1288-2>

# The evaluation of three new drugs for the treatment of sickle cell disease

*Sara de la Caridad Cholvi Kindelán*

*Universitat de València*

## **INTRODUCCIÓN**

Sickle cell anemia is a genetic disorder characterized by the presence of abnormal hemoglobin (HbS) in erythrocytes. It is caused by a point mutation that causes that the glutamate residue, in position 6 of hemoglobin, gets substituted by a valine residue, which decreases the solubility of the molecule. As a result of this, the hemoglobin aggregates and makes red blood cells become sickle shaped and rigid, making erythrocytes adhere to vascular walls, impeding normal blood flow and oxygenation. This leads to many complications, such as vaso-occlusive events, acute chest syndrome, kidney failure and pain crisis. The treatment options are very limited, yet recently approved drugs provide further and more specific ways to approach this genetic disorder. In this review we are going to evaluate these new drugs and see if they could be a viable treatment option for this disease.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

This study is a bibliographic review, based on recent journals and articles. All mentioned information is extracted from review articles and original articles from different sources, such as PubMed, by inserting "sickle cell disease (title)" and "hydroxyurea (sickle cell)" in the search bar and from clinicaltrials.gov, by inserting "Sickle cell disease" in condition and "voxelotor", "L-glutamine" and "crizanlizumab" in intervention/treatment.

## **RESULTADOS.**

When it comes to treatment for this disease, there aren't many options available currently. Both the drug hydroxyurea and allogeneic stem cell transplants are the current treatments, being hydroxyurea the most used. This drug, available as oral medication, is indicated for patients with recurrent pain crisis and other complications, regardless of age or clinical severity. However, some side effects include cytotoxic effects, reversible neutropenia, and thrombocytopenia. In the case of the hematopoietic cell transplant, despite being the most effective treatment so far, it is very risky and only a few patients can undergo this procedure due to lack to matched-related donors, making this option a very limited practical therapy.

However, there are three different drugs that were recently approved for this anemia. Since July 2017, the FDA has approved L-glutamine, crizanlizumab and voxelotor for treating sickle cell disease. L-glutamine and crizanlizumab act both on vaso-occlusion and decrease painful crisis, whereas voxelotor inhibits the polymerization of hemoglobin S, by binding to it reversibly and modulating its affinity for oxygen, thus preventing subsequent sickling and destruction of red blood cells.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Approval of these 3 new drugs broadens the window for possible treatment options for patients with SCA, since the current treatment (hydroxyurea and bone marrow transplant) have its limitations and side effects. There's still a lot of research to be done to guarantee long-term safety for the patients and to better understand the mechanisms of action of each individual drug to better improve the health of people that suffer SCA.

## BIBLIOGRAFÍA

<https://www.msmanuals.com/es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/anemias-causadas-por-hem%C3%B3lisis/drepanocitosis> (21/01/2024 9:11)

Leibovitch JN, Tambe AV, Cimpeanu E, Poplawska M, Jafri F, Dutta D, et al. L-glutamine, crizanlizumab, voxelotor, and cell-based therapy for adult sickle cell disease: Hype or hope? *Blood Rev.* mayo de 2022;53:100925.

Piccin A, Murphy C, Eakins E, Rondinelli MB, Daves M, Vecchiato C, et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. *Eur J Haematol.* abril de 2019;102(4):319-30.

Lucarelli G, Isgrò A, Sodani P, Marziali M, Gaziev J, Paciaroni K, et al. Hematopoietic SCT for the Black African and non-Black African variants of sickle cell anemia. *Bone Marrow Transplant.* noviembre de 2014;49(11):1376-81.

Lucarelli G, Gaziev J, Isgrò A, Sodani P, Paciaroni K, Alfieri C, et al. Allogeneic cellular gene therapy in hemoglobinopathies--evaluation of hematopoietic SCT in sickle cell anemia. *Bone Marrow Transplant.* febrero de 2012;47(2):227-30.

Jafri F, Seong G, Jang T, Cimpeanu E, Poplawska M, Dutta D, et al. L-glutamine for sickle cell disease: more than reducing redox. *Ann Hematol.* agosto de 2022;101(8):1645-54.

Herity LB, Vaughan DM, Rodriguez LR, Lowe DK. Voxelotor: A Novel Treatment for Sickle Cell Disease. *Ann Pharmacother.* febrero de 2021;55(2):240-5.



# A genomic evolutionary approach for identifying potential diagnostic targets in viral genomes

Santiago pérez marco<sup>1</sup>, Álvaro chiner-oms<sup>2,3</sup>

1 Escola Tècnica Superior d'Enginyeria (ETSE UV). 2 Àrea de Genòmica y Salud, FISABIO – Salud Pública, València, Spain .3 CIBER de Epidemiología y Salud Pública, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

## INTRODUCCIÓN

Los virus son entidades acelulares responsables de numerosas enfermedades infecciosas en los humanos. En general, presentan un alto potencial de propagación en la población, lo que implica tasas de incidencia elevadas y un gran interés epidemiológico. Sin embargo, muchos virus son difíciles de identificar mediante metodologías indirectas e incluso moleculares, lo que nos impide filiar ciertas enfermedades y entender su propagación y epidemiología. Presentamos una aproximación, utilizando información genómica y métodos de investigación evolutiva, para identificar regiones conservadas en genomas víricos con potencial aplicación diagnóstica.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Partimos de un alineamiento genómico, construido con secuencias descargadas de bases de datos públicas, y representativas de la diversidad global del patógeno de interés. . Alineamos con la herramienta MAFFT, manteniendo el marco de coordenadas del genoma de referencia de la especie. A continuación, construimos distintas secuencias consenso del alineamiento, usando distintos umbrales de consenso para las posiciones. Finalmente, mediante un programa escrito en Python de autoría propia, identificamos de estas secuencias consenso aquellas secuencias con la longitud mínima y cantidad de polimorfismos que especifiquemos.

Para comprobar la especificidad de las secuencias identificadas, realizamos otro alineamiento con la especie vírica más próxima (en terminos filogenéticos) presente en bases de datos, siguiendo los pasos descritos. A continuación, seleccionamos aquellas regiones identificadas en el primer alineamiento como conservadas, que no están presentes en el segundo alineamiento.

## RESULTADOS.

Haciendo uso de un genoma tipo, hemos obtenido resultados tanto a nivel genómico como proteico, aunque obtenemos más resultados y de mayor calidad en el primero. A nivel genómico, los candidatos más habituales son fragmentos cortos de 10-11 nucleótidos con 2-3 polimorfismos, aunque también se han encontrado fragmentos más largos de hasta 30 nucleótidos con 2-3 polimorfismos que podrían servir como diana. Hay que tener presente que los candidatos son dependientes de los genes que codifican las regiones en que se encuentran, ya que hay

regiones hipervariables y otras muy conservadas en los genomas virales. La cantidad de candidatos aumenta cuando se disminuye el umbral consenso o aumenta la cantidad de polimorfismos en el interior de la secuencia.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Presentamos una aproximación que nos permite identificar regiones conservadas en un genoma viral, teniendo en cuenta la diversidad genómica de una población. Además, la aproximación funciona tanto a nivel de proteína como de nivel de genoma, aunque es más probable encontrar candidatos de longitud molecular más larga a nivel genómico. Finalmente, nuestra propuesta busca maximizar la especificidad y la sensibilidad de las dianas identificadas, pudiendo sacar un uso práctico de nuestros resultados.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Wang, Y. H., Wu, C. C., Bai, C. H., Lu, S. C., Yang, Y. P., Lin, Y. Y., ... & Chen, C. C. (2021). Evaluation of the diagnostic accuracy of COVID-19 antigen tests: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the Chinese Medical Association*, 84(11), 1028-1037.

Goig, G. A., Torres-Puente, M., Mariner-Llicer, C., Villamayor, L. M., Chiner-Oms, Á., Gil-Brusola, A., ... & Comas Espadas, I. (2020). Towards next-generation diagnostics for tuberculosis: identification of novel molecular targets by large-scale comparative genomics. *Bioinformatics*, 36(4), 985-989.

Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160-1166.

# UNDERSTANDING THE 2022 MPOX (MONKEYPOX) VIRUS GLOBAL OUTBREAK: RESEARCH PERSPECTIVES AT CBMSO, MADRID

*Samuel Donaire Carpio, Francisco Javier Alvarez-de Miranda, Isabel Alonso-Sánchez, Antonio Alcamí, Bruno Hernáez*

*Centro de Biología Molecular Severo Ochoa*

## INTRODUCCIÓN

La viruela símica o mpox es una enfermedad emergente similar a la viruela humana, causada por el virus mpox (MPXV), anteriormente conocido como virus de la viruela del mono o monkeypox. Aunque fue descrito por primera vez hacia 1960, MPXV fue un patógeno desatendido y endémico en África hasta que brotes sin precedentes de MPXV causaron más de 92,000 casos de mpox en todo el mundo desde Mayo de 2022. Ahora sabemos que este MPXV emergente define un nuevo clado llamado Clado IIB, que ha acumulado varias mutaciones no sinónimas (algunas en proteínas inmunomoduladoras clave) y muestra signos de adaptación a los humanos. En este contexto, revisamos el origen y la importancia del brote de MPXV en 2023, así como los proyectos de investigación pasados y actuales realizados en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (Madrid) para abordar importantes lagunas que nos ayuden a comprender y combatir esta emergencia de salud global.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

No aplica (Revisión).

## RESULTADOS.

MPXV ha evolucionado en un nuevo clado denominado Clado IIB. Este clado, que surgió a partir del Clado IIA, ha causado brotes globales de Mpox desde 2022 caracterizados por una transmisibilidad alta de humano a humano. Además, el Clado IIB de MPXV es menos virulento que el Clado IIA en modelos experimentales de ratón. Estas características evidencian que el clado IIB podría estar adaptándose a nuevos huéspedes, incluyendo humanos. Otros trabajos muestran cómo el MPXV de Clado IIB presenta mutaciones en proteínas inmunomoduladoras clave, como los receptores solubles de citoquinas. Además, se ha observado una velocidad de evolución excepcionalmente rápida, mediada en su mayoría por la actividad de APOBEC3, lo cual ha permitido inferir que MPXV se ha transmitido de manera sostenida entre humanos desde al menos 2016.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

La emergencia de MPXV y su adaptación a humanos han ocupado una gran parte del trabajo del Laboratorio de Modulación Viral de la Respuesta Inmunitaria (CBMSO, Madrid). Un estudio reciente permitió detectar altas cargas virales de MPXV de Clado IIB en muestras de saliva de pacientes

infectados, con evidencia de virus infecciosos, y en muestras de aire en hospitales, sugiriendo vías alternativas de transmisión del virus. Asimismo, se están caracterizando detalladamente algunos receptores solubles de citoquinas codificados por el Clado IIB de MPXV, con el objetivo de comprender la base molecular de su adaptación a los humanos. Este grupo está interesado igualmente en la generación de herramientas para facilitar la investigación en biomedicina de MPXV, tales como MPXV de Clado IIB recombinantes para emitir fluorescencia.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Americo, J. L., Earl, P. L., & Moss, B. (2023). Virulence differences of mpox (monkeypox) virus clades I, IIa, and IIb.1 in a small animal model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(8), e2220415120.

Alcamí, A. (2023). Pathogenesis of the circulating mpox virus and its adaptation to humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(13), e2301662120.

Hernaiz, B., & Alcamí, A. (2020). Virus-encoded cytokine and chemokine decoy receptors. *Current Opinion in Immunology*, 66, 50–6.

Isidro, J., Borges, V., Pinto, M., Sobral, D., Santos, J. D., Nunes, A., et al. (2022). Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi-country outbreak of Monkeypox virus. *Nature Medicine*, 28(8), 1569–72.

# CAMBIOS ESTRUCTURALES Y ESTEREOLÓGICOS DEL SURCO COLATERAL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

*Rubén Rico Sánchez, Emilio Artacho Pérula, Sandra Cebada Sánchez, Jose Carlos Delgado González, Juan Raspeño García, Carlos De La Rosa Prieto.*

*Universidad De Castilla-La Mancha, Facultad de Medicina de Albacete.*

## **INTRODUCCIÓN**

La enfermedad de Alzheimer es una patología neurodegenerativa con una gran prevalencia y un alto coste económico mundial. En esta investigación presentamos un análisis cuantitativo de la relación entre la memoria, el lóbulo temporal medial (LTM) y la enfermedad de Alzheimer (EA). Exploramos la anatomía del LTM, destacando la importancia del hipocampo y el surco colateral (sc). Investigamos las implicaciones clínicas y neuropatológicas de la EA, utilizando biomarcadores y técnicas avanzadas.

En la evaluación cuantitativa, aplicamos morfometría y estereología para analizar cambios dimensionales en estructuras cerebrales. Destacamos la correlación entre estudios cuantitativos en preparaciones histológicas y neurorradiológicas, resaltando la importancia de la detección temprana.

Este enfoque cuantitativo profundiza en la comprensión de la relación entre la memoria, el LTM y la EA, proporcionando una base valiosa para futuras investigaciones y avances clínicos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Dentro de la anatomía del LTM profundizamos en el surco colateral y sus componentes en cerebros humanos, tanto en casos control como en casos de EA.

La muestra consiste en 11 casos clínicos divididos en dos grupos: control (CO) y EA. El procedimiento implica la donación de cerebro, seguido de la fijación intracraneal y el procesamiento histológico. Se utilizan métodos morfométricos y estereológicos para realizar análisis cuantitativos y cualitativos del sc. Buscamos establecer patrones normales y patológicos, identificar el sc y determinar la mejor herramienta para el diagnóstico avanzado de la EA. El estudio incluye el análisis de la citoarquitectura cortical y la aplicación del método de Cavalieri para

cuantificar volúmenes. Los datos recopilados se someten a análisis estadístico para identificar posibles correlaciones y diferencias entre los grupos control y EA.

## **RESULTADOS.**

Pudimos observar variabilidades en la morfología del sc entre hemisferios e individuos. Además, establecimos que la variabilidad es mayor en la anchura del sc y más estable en el grosor cortical, con diferencias entre casos de CO y EA.

Proporcionamos datos promedio y coeficientes de variación para varios parámetros morfométricos en ambos grupos. Pudimos observar diferencias significativas en el grosor a nivel del intervalo entre los labios medial y lateral del sc entre los grupos CO y EA.

Por otro lado, estimamos el volumen de los labios lateral y medial del sc, mostrando un descenso general en el volumen cortical en casos de EA, con diferencias significativas en la corteza.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Identificamos mayor profundidad y anchura en el sc en la EA en comparación con el grupo de CO. Observamos una reducción significativa del grosor cortical en EA.

La mayor parte del sc está ocupada por el área TE, con la capa III representando el mayor volumen. También observamos que la EA muestra menor volumen cortical en varias capas, siendo significativa en la capa VI del labio medial del sc. Pudimos ver que el método de valoración cuantitativa de estimación de volumen mediante puntos test se considera más eficiente. Por último, detectamos cambios en el volumen del sc, siendo mayor en la EA en comparación con CO.

Aproximándonos más a la obtención (Complementando con volumetría y resonancias magnéticas) de una guía para poder diagnosticar EA lo más precozmente posible.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Squire LR, Knowlton B, Musen G. The Structure and Organization of Memory. *Annu Rev Psychol.* 2003 Nov 28;44(1):453–95.
2. Delgado Gonzalez JC. Caracterización neurorradiológica y citoarquitectural de los componentes de la formación hipocampal en individuos con enfermedad de alzheimer. Estudio cuantitativo morfométrico y estereológico [Tesis doctoral]. Universidad de Castilla-La Mancha; 2016.
3. Carlos Delgado-González J, Mansilla-Legorburo F, Florensa-Vila J, Insausti AM, Viñuela A, Tuñón-Alvarez T, et al. Quantitative Measurements in the Human Hippocampus and Related Areas: Correspondence between Ex-Vivo MRI and Histological Preparations. *2015;44:453–95.*

4. Suzuki WA, Zola-Morgan S, Squire LR, Amarap DG. Lesions of the Perirhinal and Parahippocampal Cortices in the Monkey Produce Long-lasting Memory Impairment in the Visual and Tactual Modalities. Vol. 13, The Journal of Neuroscience. 1993.

# IMPACTO DE LA HEMORRAGIA INTRAVENTRICULAR NEONATAL EN EL SISTEMA CANNABINOIDE ENDÓGENO

Jalal-Gharnati R<sup>2</sup>., Martínez-Orgado J<sup>1</sup>., López-Olmeda J.F<sup>2</sup>., Romero A<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Clínico San Carlos—IdISSC, 28040 Madrid, España. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Campus Regional de Excelencia Internacional “Campus Mare Nostrum”, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España.

## INTRODUCCIÓN

La hemorragia intraventricular (HIV) es una de las complicaciones neurológicas más graves que sufren los neonatos prematuros en todo el mundo, con secuelas a largo plazo como parálisis cerebral y hemiplejía. A pesar del aumento en la supervivencia esta patología sigue siendo común y carece de tratamiento eficaz.

El sistema cannabinoide endógeno (SCE) ha cobrado importante relevancia en estudios de daño cerebral neonatal, describiéndose modificaciones en el sistema y destacando como posible terapia al proveer neuroprotección y mejorar la supervivencia celular. En consecuencia, este trabajo se centra en analizar cambios en el SCE debido a los mecanismos de daño asociados a la HIV.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

El modelo de HIV, desarrollado por nuestro grupo (Del Pozo et al., 2023), fue utilizado en crías de *Rattus norvegicus* aplicándolo a día postnatal 1 (PND1), aleatorizando en Grupo SHAM y Grupo con HIV. En el grupo HIV, se administró colagenasa de *Chlostridium VII-S* durante la cirugía para generar la hemorragia.

Se realizó espectroscopía de resonancia magnética de protón (H<sup>+</sup>-MRS) en ratas a PND6, con un tamaño muestral de 30 animales en el grupo HIV. Se realizaron estudios bioquímicos a PND2 y PND7, Western Blot (WB), inmunofluorescencia para rCB2 en microglía (n=10 animales por grupo) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) para endocannabinoides (n=7 animales por grupo). En los análisis estadísticos se emplearon pruebas de normalidad y t de Student o Mann-Whitney, considerando significativos  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS.

En el análisis por WB, en la vía de rCB2, a PND2 se observó un aumento de expresión de DAGL, MAGL, y rCB2 en estriado y corteza; a PND7 MAGL persistió elevado. En la vía de rCB1, a PND2, se incrementó rCB1, NAPE-PLD, y FAAH en corteza; a PND7, rCB1 y FAAH aumentaron en estriado, normalizándose en corteza. En el análisis LC-MS se observó que la concentración de 2-AG aumentó a PND2 pero disminuyó a PND7 en el grupo HIV, sin diferencias significativas en el resto de elementos analizados.



El estudio inmunohistoquímico no discriminó la presencia de rCB2 en células microgliales.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Estos resultados confirman que se producen cambios de expresión en el sistema cannabinoide endógeno en respuesta a la HIV en el cerebro inmaduro. La activación de rCB2 a PND2 sugiere que esta vía busca limitar la inflamación aguda. Mientras que la persistencia de la activación de rCB1 es menos evidente a PND7 en corteza, posiblemente debido a una desensibilización de la neuroprotección mediada por rCB1.

La inmunohistoquímica no reveló expresión de rCB2 en microglía, lo que deja abierta la posibilidad de que la expresión no sea exclusiva de células del sistema inmunitario en el proceso de neuroprotección contra la hemorragia intraventricular.

En conclusión, el SCE emerge como posible diana terapéutica para mejorar la calidad de vida de neonatos con daño cerebral, pero se necesitan más investigaciones para comprender completamente sus mecanismos y establecer tratamientos efectivos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Atienza-Navarro, I., Alves-Martinez, P., Lubian-Lopez, S., & Garcia-Alloza, M. (2020). Germinal Matrix-Intraventricular Hemorrhage of the Preterm Newborn and Preclinical Models: Inflammatory Considerations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8343. <https://doi.org/10.3390/ijms21218343>
- Ballabh, P., & de Vries, L. S. (2021). White matter injury in infants with intraventricular haemorrhage: Mechanisms and therapies. *Nature Reviews. Neurology*, 17(4), 199-214. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00447-8>
- Del Pozo, A., Villa, M., Vargas, C., Castejón, D., Fernández-Valle, M. E., Gutiérrez-Rodríguez, A., & Martínez-Orgado, J. (2023). Intraventricular hemorrhage induces inflammatory brain damage with blood-brain barrier dysfunction in immature rats. *Pediatric Research*, 93(1), 78-88. <https://doi.org/10.1038/s41390-022-02062-3>
- Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2013). The endocannabinoid system and the brain. *Annual Review of Psychology*, 64, 21-47. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143739>

# ESTRÉS OXIDATIVO EN EL RATÓN TS65DN, MODELO MURINO DE SÍNDROME DE DOWN

Hidalgo-Fernández P., Varea E

Departament de Biologia Cel·lular, Funcional y Antropologia Física, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València.

## INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo se produce cuando se produce un desequilibrio entre la presencia de radicales libres y la de antioxidantes. Como consecuencia estos radicales libres pueden afectar a diversas moléculas de las células pudiendo provocar la oxidación de lípidos o afectar al ADN. El Síndrome de Down es una trisomía del cromosoma 21 humano que provoca un fenotipo diverso, pero con ciertas características comunes como son los déficits cognitivos y el envejecimiento prematuro. Este envejecimiento prematuro puede estar mediado por la acción de estos radicales libres sobre, entre otros, el ADN. Nuestro grupo ha analizado algunos marcadores que confirman este envejecimiento prematuro (Mulet et al., 2017; Kirstein et al., 2022).

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Hemos estudiado la expresión (utilizando inmunohistoquímica) del marcador 8- hidroxí-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) en ratones trisómicos (Ts65Dn) y controles de 3, 6 y 14 meses de edad (6 animales por grupo). Este compuesto se genera como consecuencia de la acción de los radicales libres sobre el ADN. Nos permite conocer, de manera indirecta el nivel de estrés oxidativo al que estaba sometida la célula. Tras la perfusión, crioprotección de los cerebros y corte por congelación hemos obtenido cortes de 50 micras que hemos utilizado para este ensayo. Se ha estudiado la corteza temporal, por ser una de las regiones más afectadas por los procesos de envejecimiento. Se ha realizado una inmunohistoquímica fluorescente utilizando un anticuerpo monoclonal generado en ratón contra 8-OHdG (1:1000, R & D Systems) y un secundario anti IgG de ratón conjugado con Alexa 488. Se han tomado imágenes con un objetivo 40X utilizando un microscopio confocal Leica DM2500 y se ha cuantificado la emisión de fluorescencia en el núcleo de las neuronas de los distintos grupos utilizando el software Image J (NIH).

## RESULTADOS.

El estudio mostró un progresivo aumento de la presencia de 8-OHdG en los animales control con la edad. Al analizar los ratones trisómicos se observó que también se incrementaba con la edad. Sin embargo, al analizar los animales de edad similar se observó que en el caso de ratones de 3 y de 6 meses se observa una mayor presencia de 8-OHdG en los ratones trisómicos con respecto a los controles. En animales viejos (14 meses) la presencia de 8- OHdG es similar en ambos grupos.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Este estudio muestra el incremento en la presencia de 8-OHdG en ratones Ts65Dn jóvenes y adultos y nos permite relacionar el envejecimiento prematuro observado en ratones Ts65Dn con

el exceso de 8-OHdG y por tanto con un problema en la gestión de los radicales libres (bien por sobreproducción, bien por falta de antioxidantes). En un futuro hemos de analizar cual de los dos factores (radicales libres o antioxidantes) es responsable de ese desequilibrio y buscar la manera de corregirlo (farmacológicamente).

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Mulet M, Blasco-Ibáñez JM, Crespo C, Náchter J, Varea E (2017). Early increased density of cyclooxygenase-2 (COX-2) immunoreactive neurons in Down síndrome. *Folia Neuropathol* 55(2):154-160. doi: 10.5114/fn.2017.68582. Kirstein M, Cambrils A, Segarra A, Melero A, Varea E (2022). Cholinergic Senescence in the Ts65Dn Mouse Model for Down Syndrome. *Neurochem Res* 47(10):3076-3092. doi: 10.1007/s11064-022-03659-0.

# PATHWAYS: DISEÑO DE UN JUEGO DE MESA PARA FOMENTAR EL APRENDIZAJE SIGNIFICATIVO DE LAS VÍAS METABÓLICAS

Mia Nigro<sup>1</sup>, Andrei Catalin Petre Munteanu<sup>1</sup>, Irene Luque Calderón<sup>1</sup>, Catalina A. Pomar<sup>1,2,3</sup>, Sebastià Galmés<sup>1,2,3</sup>, Joan Ribot<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Universitat de les Illes Balears; <sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria Islas Baleares (IdISBa); <sup>3</sup>CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN))

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento y comprensión de las vías metabólicas ha permitido grandes avances en los campos de la Biología Celular y la Fisiología. Sin embargo, en el ámbito académico, el estudio de las vías de señalización resulta un tema complejo para el alumnado, ya que deben dominar no solo un gran número de conceptos, sino también, sus interacciones entre sus elementos. Con el objetivo de promover una dinámica de aprendizaje atractiva de las vías metabólicas, se ha ideado y desarrollado PATHWAYS, un juego de mesa elaborado por el alumnado.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Su desarrollo se ha basado en una propuesta de gamificación (Deterding et al., 2011; Landers, 2014) en el contexto de la asignatura "Biología Molecular y Control Metabólico" del grado de Bioquímica de la Universidad de las Islas Baleares. Primero, se seleccionó la estructura de un juego de cartas ya comercializado, para asegurar la jugabilidad de la nueva propuesta, para después ser adaptada a los contenidos teóricos de las vías de señalización promovidas por las siguientes señales: insulina, glucagón, leptina y adrenalina. Se diseñaron cuatro categorías de cartas para cada vía: la molécula señal, su receptor, sus correspondientes efectores (incluyendo segundos mensajeros) e inhibidores (o antagonistas) y algunas cartas con funciones especiales (por ejemplo, isoformas del receptor) para dotar al juego de mayor complejidad teórica. Una vez finalizada la fase de diseño, se realizó una fase de "beta-testing" para pulir aspectos de jugabilidad y establecer las reglas del juego definitivas. Finalmente, para conocer el impacto derivado de la introducción de esta dinámica, se realizaron cuestionarios de evaluación de la opinión del alumnado participante y un seguimiento comparativo de las calificaciones finales de la asignatura en comparación a otros cursos académicos.

## RESULTADOS.

Tras evaluar la viabilidad de la dinámica, la propuesta fue materializada en un juego de más de 45 cartas diferentes, con instrucciones y caja, basadas y ambientadas en las vías metabólicas, con una duración aproximada de entre 10-20 minutos. Los resultados de los cuestionarios de autoevaluación manifestaron una respuesta generalmente positiva, destacando la percepción de una dinámica novedosa, motivadora y estimulante para el estudio de las vías metabólicas. Entre los ítems mejor valorados, los participantes resaltaron positivamente el enfoque de trabajo en equipo y discusión entre iguales, pero sobretodo, la influencia de esta dinámica en la mejora de la calificación de la asignatura. De esta manera y en relación con los resultados académicos, se ha

podido apreciar una mejora notable de las notas obtenidas por los estudiantes si se comparan con cursos anteriores, en los cuales no se aplicó esta propuesta. Dado la buena funcionalidad y aceptación de la dinámica, se celebró un torneo durante las jornadas abiertas de Ciencia para todos 2023, dónde el juego fue presentado a estudiantes de otros niveles (doctorado) y otros estudios.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

La confección de PATHWAYS se concibe como una herramienta interesante para la formación de futuros investigadores en el ámbito de la Biología Molecular, ya que permite trabajar de forma eficaz y entretenida conceptos complejos de las vías de señalización.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Deterding, S., Dixon, D., Khaled, R., & Nacke, L. (2011). From game design elements to gamefulness: defining "gamification". Proceedings of the 15th International Academic MindTrek Conference: Envisioning Future Media Environments (pp. 9-15). ACM.

Landers, R. N., & Landers, A. K. (2014). An empirical test of the theory of gamified learning: The effect of leaderboards on time-on-task and academic performance. *Simulation & Gaming*, 45(6), 769-785

# CARACTERIZACIÓN NEUROPATOLÓGICA DEL CEREBRO DE UN MODELO MURINO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER, CON ÉNFASIS EN LA VÍA AMÍGDALO-ENTORRINO-HIPOCAMPAL

*Cebrián-Ferreras M<sup>1</sup>, Teruel-Sanchis A<sup>1</sup>, Savarelli-Balsamo C<sup>2</sup>, Vila-Martín ME<sup>1</sup>, M. Rodríguez-Agut<sup>1</sup>, B. Pérez-Calero<sup>1</sup>, Teruel-Martí V<sup>2</sup>, Lanuza E<sup>1</sup>.*

Departamento de Biología Celular, Funcional y Antropología Física, Facultad de Ciencias Biológicas, Universitat de València. 2. Departamento de Anatomía y Embriología Humana, Facultad de Medicina, Universitat de València.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa que afecta principalmente la memoria y provoca déficits cognitivos progresivos. A nivel histopatológico, la EA se caracteriza por la acumulación de placas de  $\beta$ -amiloide extracelular y por la hiperfosforilación de tau en forma de ovillos neurofibrilares intracelulares, que en conjunto, conducen a procesos de muerte neuronal, y por tanto, a la pérdida de la función cognitiva de los pacientes con EA.

En este estudio, empleamos un modelo murino triple transgénico de la EA (3xTgEA) para investigar la neuropatología y los déficits en la memoria social, utilizando una prueba de conducta basada en estímulos vomeronasales, ya que, en ratones, el reconocimiento individual se basa en patrones de proteínas urinarias (MUPs) detectadas por el sistema vomeronasal (Hurst, 2001).

Investigaciones previas han demostrado la implicación del circuito amígdalo-entorrino-hipocampal en la memoria social en ratones (Villafranca-Faus et al., 2021), y aunque en humanos el reconocimiento individual se basa en pistas visuales, estudios anteriores indican que la información visual también se procesa en el circuito entorrino-hipocampal (Nilssen et al., 2019).

Por lo tanto, este estudio examina esta vía utilizando una metodología de análisis automatizado de la imagen neural (QUINT) para cuantificar y localizar tridimensionalmente estos neuromarcadores y comprender los cambios neuropatológicos asociados con la alteración de la memoria social en la EA.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se perfundieron 24 hembras del modelo de 3, 6, 9 y 12 meses (n=6 en cada grupo). Se realizó un ensayo de inmunofluorescencia contra los marcadores neuropatológicos de la EA, las proteínas Tau y las placas de  $\beta$ -amiloide extracelular, y los cortes se escanearon con un escáner de fluorescencia. Posteriormente se utilizó la metodología QUINT (Yates et al, 2019) para la caracterización del cerebro y de la vía amígdalo-entorrino-hipocampal. Esta metodología optimizó la cuantificación e identificación tridimensional de estos neuromarcadores.

También se evaluó mediante una prueba de conducta la capacidad de reconocimiento individual de hembras de 3xTg AD de 2-4 y 7-9 meses, utilizando como estímulo social feromonas presentes en la orina de machos conespecíficos. La conducta se analizó con DeepLabCut, un software que utiliza herramientas de deep learning para estimar la posición de un animal en cada fotograma, y se calculó un índice de discriminación para evaluar la preferencia por los estímulos novedosos.

## **RESULTADOS**

El análisis reveló una ausencia casi total de placas de beta-amiloide extracelular y proteína tau en todo el cerebro a los 3 meses, con la excepción de una leve presencia de proteína tau en el hipocampo. Se comienza a identificar la patología a los 9 meses, pero es a los 12 meses cuando se observan abundantes depósitos de beta-amiloide en el hipocampo.

Los resultados también señalan la susceptibilidad de ciertas regiones del circuito amígdalo-entorrino-hipocampal a la patología con el envejecimiento, destacando el hipocampo y con cierta implicación de la corteza entorrinal. No se observó patología en la amígdala. También resalta la variabilidad existente entre individuos de la misma edad, tanto en la distribución como en la presencia de los marcadores neuropatológicos.

Además, la prueba de conducta mostró que los ratones de 2-4 meses identificaron el olor del macho novedoso, pero a los 7-9 meses, hubo un déficit en el reconocimiento individual.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Estos hallazgos respaldan la implicación del hipocampo y la corteza entorrinal en la memoria y la progresión de la EA. Además, los déficits de memoria social se manifiestan tempranamente, entre los 7 y 9 meses, antes de que ocurran cambios significativos en los marcadores neuropatológicos a los 12 meses, lo que sugiere que los déficits de reconocimiento individual pueden ocurrir tempranamente en pacientes con Alzheimer, antes de que ocurran cambios significativos en la patología cerebral. Este estudio proporciona una base neuropatológica para futuras investigaciones sobre los mecanismos subyacentes.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Hurst, J.L, Payne, C.E., Nevison, C.M, Marie, A.D., Humphries, R.E., Robertson, D.H.L., Cavaggioni, A., Beynon, R.J. (2001). Individual recognition in mice mediated by major urinary proteins. *Nature*, 414(6864), 631-4.

Villafranca-Faus, M., Vila-Martín, M.E., Esteve, D., Merino, E., Teruel-Sanchis, A., Cervera-Ferri, A., Martínez-Ricós, J., Lloret, A., Lanuza, E., Teruel-Martí, V. (2021). Integrating pheromonal and spatial information in the amygdalo-hippocampal network. *Nat Commun*, 12(1):5286.

Nilssen, E. S., Doan, T. P., Nigro, M. J., Ohara, S., & Witter, M. P. (2019). Neurons and networks in the entorhinal cortex: A reappraisal of the lateral and medial entorhinal subdivisions mediating parallel cortical pathways. *Hippocampus*, 29(12), 1238–1254.

Yates, S. C., Groeneboom, N. E., Coello, C., Lichtenthaler, S. F., Kuhn, P. H., Demuth, H. U., Hartlage-Rübsamen, M., Roßner, S., Leergaard, T., Kreshuk, A., Puchades, M. A., & Bjaalie, J. G. (2019). QUINT: Workflow for Quantification and Spatial Analysis of Features in Histological Images From Rodent Brain. *Frontiers in neuroinformatics*, 13, 75.

## ¿PUEDE UN ESTUDIANTE SER PROFESOR? LA ENSEÑANZA PEER TO PEER EN ECOGRAFÍA EFAST: UN ESTUDIO PILOTO

*Marta López Gilberte<sup>1</sup>, Arnau López Guitart<sup>1</sup>, Gerardo Aguilar Aguilar<sup>2</sup>*

1. Facultat de Medicina i Odontologia - Universitat de València 2. Departament de Cirurgia Universitat de València, CESIS-UV

### INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso de los estudios del grado en Medicina, el estudiantado adquiere numerosos conocimientos teóricos, pero pocos conocimientos prácticos, especialmente en materia de ecografía (1), técnica que poco a poco va ganando importancia en el ámbito clínico. Uno de los protocolos más conocidos de esta modalidad de ecografía clínica es el protocolo eFAST, empleado para detectar hemorragias en pacientes politraumatizados (2). Nuestro estudio pretende evaluar la efectividad del modelo peer to peer en la docencia de la ecografía eFAST. El modelo peer to peer es un modelo docente en el que un alumno que ha recibido formación previa transmite esos conocimientos a otros estudiantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar la aplicabilidad de este método en la docencia del estudiantado de medicina de nuestra facultad.

### MATERIAL Y MÉTODOS.



Estudiantes de grados de ciencias de la salud fueron invitados a participar un taller voluntario sobre eFAST en un simulador de ecografía, que estaba impartido por una alumna de 6° de Medicina con conocimientos acerca de la materia. Los datos sociodemográficos (curso y grado) se recogieron en el formulario de inscripción. Antes de empezar la actividad, se facilitó un cuestionario voluntario sobre eFAST, compuesto por 5 preguntas de teoría y 5 preguntas prácticas (imágenes). Tras impartir el taller, se realizó de nuevo un cuestionario con 5 preguntas teóricas y 5 prácticas, cuyos resultados se compararon con los obtenidos previamente. Además de este formulario, se administró una encuesta voluntaria de satisfacción a los participantes.

El análisis de datos se realizó mediante el programa SPSS. Los datos sociodemográficos y las encuestas se analizaron mediante frecuencias. Las medias de los test pre y post se compararon con la prueba t de student.

#### **RESULTADOS.**

38 personas participaron en el taller, de las cuales la mayoría eran de primer (44,7%) y segundo (23,7%) curso. 37 personas participaron en el examen previo y posterior al taller (response rate 97,4%). La nota media de los exámenes previos al taller fue de  $0,352 \pm 0,77$  y la de los exámenes posteriores  $8,79 \pm 1,06$ , habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p < 0,001$ ).

La encuesta de satisfacción fue realizada por 21 personas (response rate 55,3%), de las cuales 11 (52,4%) estudiaban medicina y 10 (47,6%) estudiaban enfermería. Los cursos con mayor participación fueron 1° (47,6%) y 2° (33,3%).

La mayoría de estudiantes que realizaron el taller y contestaron la encuesta afirmaron estar satisfechos con el peer to peer, consideraron que era un modelo útil para el aprendizaje y afirmaban un creciente interés por la ecografía. La nota media que otorgaron los participantes al taller fue de 9,47.

#### **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Los escasos estudios realizados hasta la fecha (3) concluyen que los estudiantes muestran interés en recibir formación por parte de otros estudiantes y que el peer to peer es un modelo que ayuda al estudiantado a aprender ecografía clínica. Nuestro estudio piloto pone de manifiesto que este modelo educativo es efectivo y que es factible que sea implantado en la formación del alumnado en nuestra Facultad.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Dickerson, J., Paul, K., Vila, P., & Whitarcar, R. (2017). The role for peer-assisted ultrasound teaching in medical school. *The Clinical Teacher*, 14(3), 170-174. <https://doi.org/10.1111/tct.12541>

2. Moore, C. L., & Copel, J. A. (2011). Point-of-Care Ultrasonography. *New England Journal of Medicine*, 364(8), 749-757. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0909487>

3. Weimer JM, Widmer N, Strelow KU, Hopf P, Buggenhagen H, Dirks K, Künzel J, Börner N, Weimer AM, Lorenz LA, Rink M, Bellhäuser H, Schiestl LJ, Kloeckner R, Müller L, Weinmann-Menke J. Long-Term Effectiveness and Sustainability of Integrating Peer-Assisted Ultrasound Courses into Medical School-A Prospective Study. *Tomography*. 2023;9(4):1315-28.

## ¿PUEDE UN ESTUDIANTE SER PROFESOR? LA ENSEÑANZA PEER TO PEER EN ECOGRAFÍA EFAST: UN ESTUDIO PILOTO

*Marta López Gilberte<sup>1</sup>, Arnau López Guitart<sup>1</sup>, Gerardo Aguilar Aguilar<sup>2</sup>*

1. Facultat de Medicina i Odontologia - Universitat de València 2. Departament de Cirurgia Universitat de València, CESIS-UV

### INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso de los estudios del grado en Medicina, el estudiantado adquiere numerosos conocimientos teóricos, pero pocos conocimientos prácticos, especialmente en materia de ecografía (1), técnica que poco a poco va ganando importancia en el ámbito clínico. Uno de los protocolos más conocidos de esta modalidad de ecografía clínica es el protocolo eFAST, empleado para detectar hemorragias en pacientes politraumatizados (2). Nuestro estudio pretende evaluar la efectividad del modelo peer to peer en la docencia de la ecografía eFAST. El

modelo peer to peer es un modelo docente en el que un alumno que ha recibido formación previa transmite esos conocimientos a otros estudiantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar la aplicabilidad de este método en la docencia del estudiantado de medicina de nuestra facultad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Estudiantes de grados de ciencias de la salud fueron invitados a participar un taller voluntario sobre eFAST en un simulador de ecografía, que estaba impartido por una alumna de 6° de Medicina con conocimientos acerca de la materia. Los datos sociodemográficos (curso y grado) se recogieron en el formulario de inscripción. Antes de empezar la actividad, se facilitó un cuestionario voluntario sobre eFAST, compuesto por 5 preguntas de teoría y 5 preguntas prácticas (imágenes). Tras impartir el taller, se realizó de nuevo un cuestionario con 5 preguntas teóricas y 5 prácticas, cuyos resultados se compararon con los obtenidos previamente. Además de este formulario, se administró una encuesta voluntaria de satisfacción a los participantes.

El análisis de datos se realizó mediante el programa SPSS. Los datos sociodemográficos y las encuestas se analizaron mediante frecuencias. Las medias de los test pre y post se compararon con la prueba t de student.

## **RESULTADOS.**

38 personas participaron en el taller, de las cuales la mayoría eran de primer (44,7%) y segundo (23,7%) curso. 37 personas participaron en el examen previo y posterior al taller (response rate 97,4%). La nota media de los exámenes previos al taller fue de  $0,352 \pm 0,77$  y la de los exámenes posteriores  $8,79 \pm 1,06$ , habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p < 0,001$ ).

La encuesta de satisfacción fue realizada por 21 personas (response rate 55,3%), de las cuales 11 (52,4%) estudiaban medicina y 10 (47,6%) estudiaban enfermería. Los cursos con mayor participación fueron 1° (47,6%) y 2° (33,3%).

La mayoría de estudiantes que realizaron el taller y contestaron la encuesta afirmaron estar satisfechos con el peer to peer, consideraron que era un modelo útil para el aprendizaje y afirmaban un creciente interés por la ecografía. La nota media que otorgaron los participantes al taller fue de 9,47.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Los escasos estudios realizados hasta la fecha (3) concluyen que los estudiantes muestran interés en recibir formación por parte de otros estudiantes y que el peer to peer es un modelo que ayuda al estudiantado a aprender ecografía clínica. Nuestro estudio piloto pone de manifiesto que este modelo educativo es efectivo y que es factible que sea implantado en la formación del alumnado en nuestra Facultad.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Dickerson, J., Paul, K., Vila, P., & Whitar, R. (2017). The role for peer-assisted ultrasound teaching in medical school. *The Clinical Teacher*, 14(3), 170-174. <https://doi.org/10.1111/tct.12541>
2. Moore, C. L., & Copel, J. A. (2011). Point-of-Care Ultrasonography. *New England Journal of Medicine*, 364(8), 749-757. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0909487>
3. Weimer JM, Widmer N, Strelow KU, Hopf P, Buggenhagen H, Dirks K, Künzel J, Börner N, Weimer AM, Lorenz LA, Rink M, Bellhäuser H, Schiestl LJ, Kloeckner R, Müller L, Weinmann-Menke J. Long-Term Effectiveness and Sustainability of Integrating Peer-Assisted Ultrasound Courses into Medical School-A Prospective Study. *Tomography*. 2023;9(4):1315-28.

# A Novel Cellular Model for Studying Polyglucosan Accumulation in Lafora Disease

*Albuixech M.*

*Instituto de Biomedicina de Valencia*

## **INTRODUCCIÓN**

Lafora disease (LD) is a rare neurological disorder characterized by progressive myoclonic epilepsy. It is caused by mutations in the genes EPM2A which encodes Laforin, a glycan phosphatase or EPM2B, which encodes Malin, an ubiquitin ligase E3. Both proteins work together and are implicated in glycogen metabolism. To study LD pathophysiology, mouse models with deletions in the Epm2a or Epm2b genes have been generated. Both mouse models present similar pathophysiological phenotypes, mimicking the ones present in LD patients. Present work has been performed with Epm2b *-/-* mouse model.

The hallmark of the disease is the presence of insoluble forms of glycogen (polyglucosan bodies, or PGBs) in the brain and its accumulation is causative of the pathophysiological features of LD. We have recently demonstrated that, *in vivo*, astrocytes are the cells that accumulate most of the PGBs present in the brain. To develop a deeper understanding of the defects, we have developed pure primary cultures of astrocytes from LD mice. Under specific conditions, Epm2b *-/-* astrocyte cultures accumulated PGBs, serving in this way as a disease cellular model to study PGB accumulation and related astrocyte dysfunctions.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Primary cultures of hippocampal and cortical astrocytes were obtained from wild type and Epm2b *-/-* mice of P0 to P1 pups. Briefly, after brain dissection and cellular homogenization, microglial cells were depleted by using CD11b magnetic beads. Then cells were plated in DMEM-FBS 20%, supplemented with antibiotics, glutamine, glucose, and sodium pyruvate at 37 °C with 5% of CO<sub>2</sub>. After 2 DIV, FBS medium concentration was changed to 10%. Once culture was confluent, cells were shaken to discard non-astrocytes cells and pure astrocytes cultures were matured with dibutyryl-cAMP either two weeks (short differentiation) or four weeks (long differentiation).

Immunofluorescence analysis. Cells were fixed, blocked, and incubated overnight at 4 °C with anti-glycogen, anti-GFAP, and anti-S100 $\beta$  primary antibodies. After washes, cells were incubated with the appropriate secondary antibody, washed, and mounted with DAPI. When indicated, samples were first treated with diastase, washed with PBS and processed for immunofluorescence analyses as above. Images were acquired with a confocal microscope and analyzed with an image software. To quantify glycogen inclusions, at least 100 cells were counted per condition.

## **RESULTADOS.**

Epm2b <sup>-/-</sup> astrocytes cultures from LD mice accumulate more polyglucosan than control astrocytes, mimicking one of the hallmarks of Lafora disease.

Short differentiated Epm2b<sup>-/-</sup> astrocytes cultures have small cytoplasmic polyglucosan inclusions sensitive to diastase.

Long differentiated Epm2b<sup>-/-</sup> astrocytes cultures show bigger intracellular polyglucosan accumulations and resistant to diastase action, like regular Lafora bodies.

Glycogen inclusions in long-differentiated Epm2b <sup>-/-</sup> astrocytes are superaggregates of small particles.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

We have established a new murine cellular model for Lafora disease based on primary astrocytes. This in vitro model recapitulates differential PGBs accumulations in two different stages, after 2 or 4 weeks of their isolation and maturation, being more severe in the case of the long differentiation. This model could be useful to search for repurposing drugs that could alleviate the Lafora disease phenotype.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Moreno-Estellés M, Campos-Rodríguez Á, Rubio-Villena C, Kumarasinghe L, Garcia-Gimeno MA, Sanz P. Deciphering the Polyglucosan Accumulation Present in Lafora Disease Using an Astrocytic Cellular Model. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 23;24(7):6020. doi: 10.3390/ijms24076020. PMID: 37046993; PMCID: PMC10094345.

Rubio-Villena C, Viana R, Bonet J, Garcia-Gimeno MA, Casado M, Heredia M, Sanz P. Astrocytes: new players in progressive myoclonus epilepsy of Lafora type. *Hum Mol Genet.* 2018 Apr 1;27(7):1290-1300. doi: 10.1093/hmg/ddy044. PMID: 29408991; PMCID: PMC6059194.

# ESTUDIO DE LA ANCESTRÍA UNIPARENTAL EN POBLACIONES ANDALUZAS: DIVERSIDAD GENÉTICA HUMANA Y SU RELACIÓN CON LA SALUD

*Marina González-Barrio, Luis J. Sánchez-Martínez, Candela L. Hernández, Rosario Calderón*

*Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid*

## INTRODUCCIÓN

El análisis de los marcadores uniparentales (ADN mitocondrial –ADNmt– y cromosoma Y –C-Y) permite trazar la ancestría poblacional de los individuos, mediante la identificación de agrupaciones de secuencias genéticas conocidas como “haplogrupos”. Su estudio es especialmente interesante en territorios geográficos clave donde se han sucedido numerosos movimientos poblacionales durante la prehistoria y la historia. El sur de la Península Ibérica, Andalucía, ha sido el foco de numerosas investigaciones en el ámbito de la Antropología Genética (Hernández et al. 2023). En este trabajo se analiza, de manera conjunta, los dos sistemas uniparentales en dos poblaciones andaluzas –Huelva y Granada– desde una perspectiva microgeográfica. Estas poblaciones humanas han sido previamente estudiadas para varios marcadores relacionados con la salud (Sánchez-Martínez et al. 2021).

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Se analizaron 929 muestras, pertenecientes a 7 localidades de Huelva y 6 de Granada, para diferentes marcadores moleculares del ADNmt y el C-Y, los cuales permitieron inferir los haplogrupos de pertenencia de las muestras. Estos haplogrupos se clasificaron en tres ancestrías filogeográficas posibles, en función de su origen potencial: Europa, África y Oriente Próximo. Las distribuciones de las ancestrías dentro de las provincias se representaron mediante mapas de contornos. Asimismo, se utilizó un modelo Bayesiano para comprobar si esta distribución es dependiente de la longitud y latitud de las localidades (INLA). Finalmente, se analizó el grado de correspondencia entre la ancestría materna (ADNmt) y paterna (C-Y) de los individuos mediante un análisis de correspondencias múltiples (MCA).

## RESULTADOS.

La provincia de Huelva presenta mayor heterogeneidad en cuanto a los orígenes filogeográficos que Granada, para ambos sistemas uniparentales. Destacan en particular las diferencias obtenidas en la ancestría africana entre ambas provincias, siendo notablemente mayor en Huelva que en Granada. Se observó un incremento del componente europeo en el tercio mediterráneo, mientras que el componente ancestral de Oriente Próximo y África alcanza sus frecuencias máximas en la vertiente atlántica. Por otro lado, existe una correlación significativa entre la distribución de la ancestría materna europea y de Oriente Próximo en relación a la longitud y latitud de las localidades. Finalmente, los resultados del MCA no reflejan grandes coincidencias entre la ancestría paterna y materna de un mismo individuo, lo que indica que las historias maternas y paternas de una población no deben ser necesariamente paralelas.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Las provincias de Huelva y Granada presentan mayores diferencias de las esperadas en cuanto al origen filogeográfico de sus individuos, lo que implica que han estado sometidas a dinámicas demográficas diferentes en el pasado. El componente genético ancestral de una población puede estar directamente vinculado a su susceptibilidad para padecer ciertas patologías en la actualidad. Así, en Huelva, se han hallado altas frecuencias de mutaciones talasémicas específicas, cuyo origen puede ser vinculado a poblaciones africanas. Del mismo modo, se conoce la asociación entre determinados haplogrupos del ADNmt y enfermedades (Hernández 2023). El análisis del origen filogeográfico de las poblaciones humanas permite acercarnos a la historia evolutiva reciente de las mismas, así como enriquecer nuestro conocimiento sobre la salud de sus habitantes.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Hernández, C. L. (2023). Mitochondrial DNA in Human Diversity and Health: From the Golden Age to the Omics Era. *Genes*, 14(8), 1534.

Hernández, C. L., Sánchez-Martínez, L. J., & Calderón, R. (2023). El impacto del estrecho de Gibraltar y su entorno sobre la diversidad genética humana en el Mediterráneo occidental. In *El estrecho de Gibraltar: llave natural entre dos mares y dos continentes. Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural* (pp. 319–333). Real Sociedad Española de Historia Natural.

Sánchez-Martínez, L. J., Hernández, C. L., Rodríguez, J. N., Dugoujon, J. M., Novelletto, A., Ropero, P., Pereira, L., & Calderón, R. (2021). Genetic variation patterns of  $\beta$ -thalassemia in western Andalusia (Spain) reveal a structure of specific mutations within the Iberian Peninsula. *Annals of Human Biology*, 48(5), 406–417.



# "CARACTERIZACIÓN DE LOS NEUTRÓFILOS DIFERENCIADOS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE Y PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS ESTIMULADOS CON DIFERENTES LIGANDOS MICROBIANOS"

*María Sobén Urrea*

*Universitat de València*

## **INTRODUCCIÓN**

Los neutrófilos juegan un papel muy importante en la defensa frente a *Candida albicans*, ya que además de presentar capacidad para fagocitar y eliminar a la levadura poseen potentes mecanismos microbicidas tanto intracelulares como extracelulares. En trabajos anteriores se ha descrito que la capacidad antimicrobiana de los macrófagos derivados de HSPCs (Hematopoietic Stem and Progenitor Cells) se ve alterada en función de los estímulos detectados por estos progenitores. De este modo, la estimulación de las HSPCs con ligandos puros de TLR2 y TLR4 induce la diferenciación hacia macrófagos tolerizados (menor producción de citocinas proinflamatorias) que presentan una mayor capacidad fungicida, mientras que la estimulación de los progenitores con ligandos fúngicos, como la levadura *C. albicans* o el  $\beta$ -glucano, induce la diferenciación hacia macrófagos entrenados (mayor producción de citocinas proinflamatorias) que también presentan una mayor capacidad fungicida. El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar funcional y fenotípicamente los neutrófilos diferenciados a partir de HSPCs expuestas a diferentes estímulos, para describir cómo afecta la señalización inducida en los progenitores al fenotipo de los neutrófilos maduros.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Purificación de HSPCs: Se purificaron las HSPCs identificándolas por la ausencia de la expresión de marcadores de diferentes linajes hematopoyéticos (células Lin<sup>-</sup>). Para ello, los animales fueron eutanizados y se extrajeron las extremidades inferiores con el objetivo de obtener la médula ósea. Posteriormente, se llevó a cabo la purificación de las células linaje negativas (Lin<sup>-</sup>) mediante separación inmunomagnética automática. Para realizar dicha separación se emplearon microesferas magnéticas y un cóctel de anticuerpos contra un panel de antígenos específicos de diferentes linajes. Tras las incubaciones correspondientes, se pasaron las células a través de una columna imantada de forma que las células que expresaban los marcadores de linaje, y que, por tanto, quedaban marcadas (Lin<sup>+</sup>), quedaban retenidas en la columna, y las que no expresaban dichos marcadores y por tanto no estaban marcadas (Lin<sup>-</sup>), pasaban a través de ella

Diferenciación in vitro de células Lin<sup>-</sup> con G-CSF e IL-3 en presencia de diferentes agonistas de PRRs: 0.2x10<sup>6</sup> células Lin<sup>-</sup> purificadas a partir de la médula ósea fueron sembradas en placas de cultivo de 55 mm en presencia de 4mL de medio de cultivo celular completo: RPMI 1640 suplementado con un 5% de FBS inactivado por calor y un 1% de penicilina-estreptomicina (Gibco). Además, el medio fue suplementado con 20 ng/mL de SCF (factor de células madre; Peprotech) para favorecer la supervivencia y la proliferación de las HSPCs. Durante las primeras 24 horas de diferenciación se añadieron los estímulos en las condiciones indicadas más adelante.

Se emplearon como estímulos el ligando del TLR2 (Pam3CSK4 (Invivogen)) a una concentración de 1 µg/mL; el ligando puro de la Dectina-1 (Zymosan deplecionado (Invivogen)) a una concentración de 10 µg/mL; y levaduras inactivadas de la cepa virulenta *C. albicans* ATCC 2655, a una ratio 1:5 (célula murina: levadura). Pasadas estas 24 horas se lavaron los estímulos añadidos y se añadieron de nuevo 4 mL de medio celular completo suplementado con FBS, penicilina-estreptomicina y 20 ng/mL de SCF. Para inducir la diferenciación de las HSPCs hacia neutrófilos se añadieron las citocinas G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos; Peprotech) e IL-3 (Interleucina-3; Peprotech) a 50 ng/mL y 10 ng/mL, respectivamente. Se dejaron diferenciando un total de 8 días a 37°C con una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub>.

Por otro lado, también se empleó como estímulo la exposición transitoria a levaduras vivas de la cepa virulenta *C. albicans* ATCC 2655, a una ratio 1:0.5 (célula murina: levadura). En este modelo experimental se expusieron las HSPCs a la levadura viva durante 6 h a 37°C con una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub>. En estas condiciones la mayor parte de las levaduras dejan de crecer mediante gemación y se produce la transición hacia la forma de crecimiento filamentosa, por lo que se induce la generación de micelios e hifas. Pasadas las 6 h, se añadió anfotericina B (0.5 µg/mL) para frenar el crecimiento fúngico y, aprovechando que cuando la levadura crece en forma filamentosa queda muy adherida al plástico, se recogieron las HSPCs (dejando las hifas adheridas a la placa de cultivo original) y se sembraron en placas de cultivo de 55 mm, en presencia de 4mL de medio de cultivo celular completo suplementado con FBS, 1% de penicilina-estreptomicina, 20 ng/mL de SCF y 0.5 µg/mL de anfotericina B para evitar el crecimiento de las levaduras que hubiesen podido ser transvasadas junto a las células. Para inducir la diferenciación hacia neutrófilos se añadieron las citocinas G-CSF e IL-3 a 50 ng/mL y 10 ng/mL, respectivamente, y se dejaron diferenciando un total de 8 días a 37°C con una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub>.

## RESULTADOS.

En este trabajo se ha empleado un modelo de diferenciación *in vitro* para caracterizar fenotípica y funcionalmente a los neutrófilos diferenciados a partir de HSPCs expuestas transitoriamente a Pam3CSK4 (ligando puro del TLR2), a Zymosan deplecionado (ligando puro de la Dectina-1) o a levaduras tanto inactivadas como vivas de la cepa *C. albicans* ATCC 2655. Los resultados muestran que la estimulación de las HSPCs con Pam3CSK4 o con la levadura viva incrementa la capacidad fungicida y fagocítica de los neutrófilos obtenidos, disminuye su capacidad para producir citocinas proinflamatorias y promueve la adquisición de características inmunosupresoras. Sin embargo, la estimulación de las HSPCs con Zymosan deplecionado o con la levadura inactivada incrementa la capacidad fungicida de los neutrófilos obtenidos sin alterar su capacidad fagocítica, incrementa su capacidad para producir citocinas proinflamatorias e incrementa su capacidad para inducir una respuesta inmunitaria más potente. Estos resultados desvelan nuevos mecanismos de la inmunidad innata que podrían ser modulados para inducir una respuesta mejorada frente a la infección.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

La señalización vía PRRs en las HSPCs como consecuencia de su exposición a diferentes ligandos microbianos altera el fenotipo de los neutrófilos diferenciados a partir de las mismas. Además, el fenotipo adquirido depende del estímulo inicial y de la señalización específica de los diferentes PRRs en los progenitores hematopoyéticos. Los neutrófilos diferenciados a partir de HSPCs expuestas al ligando del TLR2 (Pam3CSK4) o a levaduras vivas de la cepa *C. albicans* ATCC 26555 muestran una mayor capacidad fungicida y fagocítica, un fenotipo tolerizado en la producción de citocinas proinflamatorias y un comportamiento más inmunosupresor, por lo que desencadenarían una respuesta inmunitaria menos inflamatoria. Los neutrófilos diferenciados a partir de HSPCs expuestas al ligando de la Dectina-1 (Zimosán deplecionado) o a levaduras inactivadas de la cepa *C. albicans* ATCC 26555 muestran una mayor capacidad fungicida, sin modificar su capacidad fagocítica, y un fenotipo entrenado en la producción de citocinas proinflamatorias. Además, dado que expresan niveles más altos del gen *Il17rc* presentarían una mayor capacidad de respuesta a la IL-17, por lo que inducirían una respuesta inmunitaria más potente.

## BIBLIOGRAFÍA

[1] Martínez, A., Bono, C., Megías, J., Yáñez, A., Gozalbo, D., & Gil, M. L. (2017). PRR signaling during *in vitro* macrophage differentiation from progenitors modulates their subsequent response to inflammatory stimuli. *European Cytokine Network*, 28(3), 102–110. <https://doi.org/10.1684/ECN.2017.0398>

## ESTUDIO DE MIR-28 EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO.

*Palop-Medina M., Gil-Ruiz T., Rosales-Ariza C., Descals-Beltrán B., Paes A.B., Pérez-Cremades D., Hermenegildo C., Novella S.*

Dep. Fisiología, Universitat de València - Instituto de Investigación Biomédica INCLIVA, València, España.

### INTRODUCCIÓN

El infarto agudo de miocardio es una de las principales causas de mortalidad de los países desarrollados. Es por ello por lo que se está potenciando la búsqueda de biomarcadores que permitan el diagnóstico temprano y el pronóstico de la enfermedad. Entre los potenciales

biomarcadores que se estudian en la actualidad encontramos a los microRNAs (miRNA). Estudios previos desarrollados en el Laboratorio de Investigación en Células Endoteliales demostraron cambios en la expresión de miRNA circulantes tras un infarto de miocardio, entre los que encontramos el miR-28-3p. En este trabajo se pretende evaluar las posibles funciones biológicas del miR-28-3p por medio de herramientas bioinformáticas y bases de datos, y estudiar su expresión en un modelo murino de infarto de miocardio.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se realizó un análisis bioinformático mediante diferentes bases de datos para buscar la secuencia del miR-28-3p, la Ontología Génica, sus dianas, así como las rutas biológicas en las que participa. Además, se utilizó un modelo experimental de ratón, empleando tanto ratones macho como hembra. Para estudiar el efecto del infarto de miocardio se indujo una isquemia mediante la ligadura de la arteria coronaria (grupo IAM), y el correspondiente control de cirugía (grupo Sham). La expresión del miRNA se determinó mediante qPCR. El análisis estadístico se empleó GraphPad Prism 8.0.2, presentando los datos como la media  $\pm$  error estándar de la media y realizando los t-test no pareados y ANOVA de dos factores.

## **RESULTADOS.**

Los estudios bioinformáticos demostraron la implicación del miRNA en el metabolismo lipídico y el sistema cardiovascular, puesto que las dianas predichas se encontraron en rutas relacionadas con las síntesis de glicoesfingolípidos, lipólisis de adipocitos, obesidad o senescencia cardiovascular, entre otras. Por otra parte, se observó una mayor expresión del miR-28-3p en la grasa perivascular y abdominal, el corazón y el hígado. Además, identificamos diferencias significativas entre machos y hembras en pulmón, músculo esquelético y corazón. Finalmente, se observó una disminución de la expresión del miR-28-3p en suero y corazón en el grupo IAM respecto a Sham, siendo significativa en el grupo de los machos, donde se observó una disminución significativa en la expresión del miRNA en el grupo infartado respecto al grupo control.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Tanto el análisis bioinformático como la expresión en tejidos implicados en el metabolismo lipídico y procesos cardiovasculares permite relacionar al miR-28-3p con enfermedades como la diabetes y el síndrome metabólico que son importantes factores de riesgo que pueden conducir a problemas cardiovasculares. Además, cambios en la expresión del miRNA en el modelo experimental de infarto de miocardio podría indicar su papel en procesos patológicos a nivel cardiovascular. Son necesarios más estudios que corroboren los datos obtenidos para emplear el miR-28-3p como biomarcador para un rápido diagnóstico y monitorización del infarto.

## **FINANCIACIÓN**

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III - FEDER-ERDF (PI19/01714; PI22/1083), la Generalitat Valenciana (CIAICO2021/211; CIGE/2021/158) y la Acción COST (CA21153 AtheroNET). B.D.B. es investigadora predoctoral de la GVA (CIACIF/2022/331).

## BIBLIOGRAFÍA

Kim, M.-J., Chang, U.-J., Chung, J.-H., Kim, H. K., Lim, B. O., Yamada, K., Lim, Y., & Kang, S. A. (2005). Dissimilarity in Fos and jun immunoreactivity in hypothalamic regions between obese and lean Zucker rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(10), 1982–1984.

Lv, Y., Yang, H., Ma, X., & Wu, G. (2019). Strand-specific miR-28-3p and miR-28-5p have differential effects on nasopharyngeal cancer cells proliferation, apoptosis, migration and invasion. *Cancer Cell International*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0915-x>

Mompeón, A. (2018). Análisis de la expresión de miRNA circulantes en pacientes con infarto agudo de miocardio y su relación con citoquinas. Repercusión funcional en cultivos de células endoteliales humanas. Universitat de València. Facultad de Medicina y Odontología.

Zampetaki, A., Kiechl, S., Drozdov, I., Willeit, P., Mayr, U., Prokopi, M., Mayr, A., Weger, S., Oberhollenzer, F., Bonora, E., Shah, A., Willeit, J., & Mayr, M. (2010). Plasma MicroRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other MicroRNAs in type 2 diabetes. *Circulation Research*, 107(6), 810–817. <https://doi.org/10.1161/circresaha.110.226357>

# ESTUDIO DE LAS CAUSAS CROMOSÓMICAS DE INFERTILIDAD EN UNA COHORTE DE 872 CASOS

*Laura Beaus, Teresa San-Miguel, Concepción López-Ginés, Javier Megías*

*Universitat de València*

## **INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS**

Existen diversas indicaciones médicas para la realización del análisis cromosómico por cariotipo. Esta técnica permite a los pacientes con trastornos reproductivos de causa cromosómica conocer su condición y su riesgo de recurrencia, así como poder individualizar su tratamiento. Por tanto, el cariotipo es la primera línea de estudio para detectar cromosomopatías en la pareja estéril o infértil tras haber descartado otras causas no cromosómicas. El objetivo del trabajo fue seleccionar, dentro de un total de 3831 casos procedentes de los archivos del Departamento de Patología, aquellos asociados a problemas reproductivos (872 casos) y estudiar la relación de las diferentes causas de esterilidad e infertilidad con el sexo y la edad de los pacientes, así como analizar la relación existente entre la presencia de anomalías cromosómicas en el cariotipo y los problemas de esterilidad e infertilidad.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Trabajo de investigación observacional, retrospectivo y descriptivo a partir de estudios cromosómicos procedentes de los servicios de Ginecología-Obstetricia, Infertilidad y Urología de diversos hospitales de la provincia de Valencia y remitidos a la Sección de Citogenética del Servicio de Patología de la Universidad de Valencia desde 1995 hasta 2006.

## **RESULTADOS**

La frecuencia de anomalías cromosómicas halladas en los pacientes que consultaron por trastornos reproductivos fue del 10,7%. Estas fueron, de mayor a menor representación: anomalías numéricas (23,5%), anomalías estructurales equilibradas (38,3%), anomalías estructurales desequilibradas (8,6%) y heteromorfismos (28,4%). Se hallaron más cariotipos anómalos en hombres, debido a la mayor esterilidad masculina de origen cromosómico. El porcentaje de anomalías cromosómicas fue mayor en consultantes con un aborto que en aquellos con abortos recurrentes. Las anomalías numéricas se relacionaron más con alteraciones en la espermatogénesis. Los heteromorfismos mostraron una asociación con la infertilidad.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Los problemas reproductivos se han convertido en un tema de importante abordaje y para su estudio es imprescindible la citogenética convencional que establece relaciones cariotipo-fenotipo, permitiendo disponer de un diagnóstico, pronóstico y manejo de dichos pacientes.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Izatt, L. (2012). Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling: Fourth Edition. *Clinical Medicine*, 12(3), 297. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.12-3-297>

L.Nussbaum, R., R. McInnes, R., & F.Willard, H. (2016). *Thompson & Thompson Genética en medicina* VIII edición. Elsevier.

L. Hoffman, B., O. Schorge, J., I.Schaffer, J., M. Halvorson, L., D. Bradshaw, K., y Cunningham, G. (s.f.). *Williams Ginecología* Segunda edición. University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas: Department of Obstetrics and Gynecology.



# ANÁLISIS DEL PAPEL DE LAS NEURONAS KISS1 DEL AVPV EN LA GENERACIÓN DEL PICO PREEVULATORIO DE LH EN RATONES

García Vera, J. J., Castellano Rodríguez, J.M., García-Galiano, D., Tena-Sempere, M.

*Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), GC10: Regulación hormonal del balance energético, la pubertad y la reproducción.*

## INTRODUCCIÓN

En mamíferos, la ovulación está supeditada a la liberación de la hormona luteinizante (LH), la cual está controlada a nivel hipotalámico por la síntesis de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La producción de GnRH, a su vez, está regulada por unos neuropéptidos denominados kisspeptina (Kp), codificados por el gen *Kiss1*. Las Kp son expelidas principalmente por dos grupos de neuronas específicas ubicadas en dos núcleos hipotalámicos en roedores: el periventricular anteroventral (AVPV) y el arcuato (ARC). Además, las Kp también se ven influenciadas por los estrógenos gonadales, completando así la compleja red de señalización neuroendocrina del eje reproductor.

A pesar de que algunos estudios han sugerido la relevancia de la población neuronal de *Kiss1* en el AVPV en la generación del pico preovulatorio de gonadotropinas, aún no se han llevado a cabo estudios refinados que permitan valorar su verdadera contribución en dicho contexto. En el presente trabajo hemos abordado el estudio de dicho papel, empleando para ello herramientas virogenéticas que nos permiten evaluar el impacto de la inactivación condicional y temporal de la población neuronal de *Kiss1* del AVPV en la generación del pico preovulatorio de LH.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

El animal experimental usado en este estudio es el ratón homocigoto *Kiss1*<sup>fl/fl</sup>, producido por el Turku Center for Disease Modeling (Turku, Finlandia). Dicho ratón porta una mutación en el gen *Kiss1*, concretamente en el exón 3, el cual se encuentra flanqueado por dos motivos loxP. Las ratonas adultas *Kiss1*<sup>fl/fl</sup> fueron inyectadas bilateralmente con estereotáxico en el AVPV (A/P: + 0.5 mm; D/V: - 5.2 mm; M/L: ± 0.25 mm) con 400  $\mu$ l de los vectores virales AAV5\_CMV:Cre (1.45 x 10<sup>12</sup> GC/ml) y AAV5\_CMV:eGFP (1.68 x 10<sup>12</sup> GC/ml), usado como control. Tras las tres semanas de infección se registraron diariamente las fases del ciclo estral. Posteriormente, las ratonas se sometieron a ovariectomía bilateral y se les implantaron cápsulas rellenas con 17 $\beta$ -estradiol (E2, 5

µg/ml) disuelto en aceite de sésamo. Cuando todas las ratonas presentaron fase de diestro, se les inyectó subcutáneamente benzoato de E2, 1 µg por 20 g de peso corporal. Al día siguiente se recogieron muestras de sangre de la cola (4 µl diluído en 46 µl PBS – Tween) por la mañana (10 am) y por la tarde (antes y después del apagado de las luces) para la posterior determinación de los niveles de LH mediante ELISA. Tras la última recogida de muestra, los animales fueron anestesiados y decapitados para la obtención de los cerebros y fueron almacenados a –80°C. Finalmente, las muestras de cerebro fueron cortadas en secciones de 16 µm en un criostato y una serie fue utilizada para inmunofluorescencia con el fin de evaluar la expresión del péptido Kp, y otra para hibridación in situ por fluorescencia mediante RNAscope® para determinar la expresión del transcrito de Kiss1 en el AVPV. La captura de imágenes se realizó en un microscopio de fluorescencia Leica Thunder DMI8 y para los análisis, cálculos estadísticos y elaboración de gráficos se empleó GraphPad Prism9.

## **RESULTADOS.**

Los datos recopilados muestran que la inactivación de Kiss1 en el núcleo AVPV genera una alteración de la ciclicidad estral en la ratona adulta, además de repercutir significativamente sobre los niveles circulantes de LH preovulatorios inducidos por el protocolo de inducción farmacológica por estrógenos. Mientras que las ratonas inyectadas con el vector control AAV-eGFP presentan un pico de LH inducido farmacológicamente, las ratonas inyectadas con el vector AAV-Cre muestran una **drástica** reducción de este fenómeno, manteniendo unos niveles de LH circulantes semejante a los niveles basales. Por tanto, estos datos confirman claramente que la inactivación de Kiss1 en el AVPV evitó la elevación de LH inducida por E2.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Nuestros datos demuestran el papel esencial que la población neuronal de Kiss1 en el AVPV desempeña en la liberación de la secreción en forma de pico de GnRH/LH previo a la ovulación. Además, demostramos aquí que la señalización kisspetinérgica es requerida para el mantenimiento de la función reproductiva en las ratonas adultas, asegurando la fertilidad y la regularidad del ciclo estral. Estos datos sitúan a esta población neuronal como elemento mediador de los efectos por retroalimentación positiva ejercidos por los estrógenos en la regulación neuroendocrina de la fertilidad, en un evento determinante como es la ovulación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Garcia-Galiano, D., Pinilla, L., & Tena-Sempere, M. (2012). Sex steroids and the control of the Kiss1 system: developmental roles and major regulatory actions. *J Neuroendocrinol*, 24(1), 22-33. doi: 10.1111/j.1365-2826.2011.02230.x.

Pinilla, L., Aguilar, E., Dieguez, C., Millar, R. P., & Tena-Sempere, M. (2012). Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev*, 92(3), 1235-1316. doi: 10.1152/physrev.00037.2010.

Roa, J., Ruiz-Cruz, M., Ruiz-Pino, F., Onieva, R., Vazquez, M. J., Sanchez-Tapia, M. J., Ruiz Rodriguez, J. M., Sobrino, V., Barroso, A., Heras, V., Velasco, I., Perdices-Lopez, C., Ohlsson, C., Avendano, M. S., Prevot, V., Poutanen, M., Pinilla, L., Gaytan, F., & Tena Sempere, M. (2022). Dicer ablation in Kiss1 neurons impairs puberty and fertility preferentially in female mice. *Nat Commun*, 13(1), 4663. doi: 10.1038/s41467-022- 32347-4.

Velasco, I., Franssen, D., Daza-Duenas, S., Skrapits, K., Takacs, S., Torres, E., Rodriguez Vazquez, E., Ruiz-Cruz, M., Leon, S., Kukoricza, K., Zhang, F. P., Ruohonen, S., Luque Cordoba, D., Priego-Capote, F., Gaytan, F., Ruiz-Pino, F., Hrabovszky, E., Poutanen, M., Vazquez, M. J., & Tena-Sempere, M. (2023). Dissecting the KNDy hypothesis: KNDy neuron-derived kisspeptins are dispensable for puberty but essential for preserved female fertility and gonadotropin pulsatility. *Metabolism*, 144, 155556. doi: 10.1016/j.

## **EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO DEL ZUMO DE GRANADA (PUNICA GRANATUM) EN LA INTERNALIZACIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES PRESENTES EN ESTE**

*Bernabeu-Martínez JA, Sánchez-López, C. M, Pérez-Bermúdez, P., Marcilla, A., Soler, C.*

*Universitat de València*

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años se ha producido un aumento en el estudio de las vesículas extracelulares (VE). Entre los motivos se encuentra las ventajas que pueden presentar tanto en el diagnóstico como el tratamiento de enfermedades. En cuanto a las VE derivadas de plantas, una aplicación estudiada es como posibles vehículos de diferentes principios activos. En diferentes estudios han mostrado ser una buena opción, presentando ventajas sobre otras estructuras como los liposomas. Es por ello que el objetivo de este trabajo es hacer un estudio preliminar de la internalización de las VE de granada (*Punica granatum*) (VEPG), para determinar si el tratamiento del zumo tiene efectos sobre esta y si podrían ser utilizadas como un posible vehículo de sustancias activas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se trata de un trabajo original de investigación en el que en primer lugar, se extrajo el zumo de granada, al cual se aplicaron diferentes tratamientos industriales, obteniendo zumo natural, liofilizado y pasteurizado. A continuación, se aislaron las VE a través de la filtración de flujo tangencial y se purificaron con cromatografía de exclusión molecular. A partir de estas muestras, se realizaron pruebas para caracterizar las VE (TEM y NTA) y determinar su pureza. Finalmente se

estudió la capacidad de internalización de las VEPG a través del cultivo con células THP-1 y el posterior análisis con citometría de flujo.

## **RESULTADOS**

Los datos adquiridos mostraron que las muestras de VE aisladas presentaban gran pureza. En cuanto a la internalización, las VEPG presentaron un mayor porcentaje de internalización que los liposomas en el mismo tiempo de incubación. Concretamente, las del zumo natural fueron las que presentaron una mayor internalización a las 2 horas, seguidas de las de zumo pasteurizado y liofilizado respectivamente. También se observó que la placa incubada a 4°C casi no presentó internalización.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Con los resultados obtenidos, se concluyó que el tratamiento del zumo antes de aislar las VE modifica la capacidad de internalización de estas. De igual modo se puede concluir que las VEPG, sin importar el tratamiento realizado, son superiores a los liposomas en cuanto a la eficiencia en la internalización y que las de zumo natural serían las más adecuadas para actuar como vehículos de fármacos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Sánchez-López, C. M., Manzaneque-López, M. C., Pérez-Bermúdez, P., Soler, C., & Marcilla, A. (2022). Characterization and bioactivity of extracellular vesicles isolated from pomegranate. *Food & Function*, 13(24), 12870-12882. <https://doi.org/10.1039/D2FO01806C>

Mulcahy, L. A., Pink, R. C., & Carter, D. R. F. (2014). Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3(1), 24641. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24641>

Ito, Y., Taniguchi, K., Kuranaga, Y., Eid, N., Inomata, Y., Lee, S.-W., & Uchiyama, K. (2021). Uptake of MicroRNAs from Exosome-Like Nanovesicles of Edible Plant Juice by Rat Enterocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3749. <https://doi.org/10.3390/ijms22073749>

Wang, B., Zhuang, X., Deng, Z.-B., Jiang, H., Mu, J., Wang, Q., Xiang, X., Guo, H., Zhang, L., Dryden, G., Yan, J., Miller, D., & Zhang, H.-G. (2014). Targeted Drug Delivery to Intestinal Macrophages by Bioactive Nanovesicles Released from Grapefruit. *Molecular Therapy*, 22(3), 522-534. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.190>

# IB20134-REACCIONES ADVERSAS AL PARACETAMOL: MECANISMOS IMPLICADOS Y APLICACIÓN EN LA PRESCRIPCIÓN PERSONALIZADA.

*Argueta I, Ayuso P, Gómez J*

*Área de Farmacología. Departamento de Terapéutica-Médico-Quirúrgica de la Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura.*

## INTRODUCCIÓN

El paracetamol es un fármaco relativamente seguro muy utilizado en la actualidad por su efecto antipirético y analgésico. La frecuencia de las reacciones adversas al paracetamol está aumentando en los últimos años, dentro de las cuales se encuentran reacciones de tipo A y tipo B. Existe una alta variabilidad en el metabolismo (Mazaleuskaya et al., 2015) y respuesta al paracetamol en la población que pueden explicar la aparición de estas reacciones adversas. Tanto los factores ambientales como los genéticos pueden ser causantes de esta variabilidad. En este trabajo, analizamos el efecto de los factores ambientales (el sexo, edad e índice de masa corporal) y el efecto de la presencia de polimorfismos en genes implicados en el metabolismo del paracetamol (SULT1A1 rs1042028, CYP1A2 rs762551 y UGT1A9 rs76167146) sobre la farmacocinética del paracetamol.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Para ello, se han analizado muestras a distintos tiempos de pacientes que habían sido sometidos a tratamientos con paracetamol intravenoso para analizar los diferentes metabolitos y parámetros. Además, se ha realizado un análisis genético de los pacientes para determinar el genotipo de cada uno de estos polimorfismos. En este análisis, se corrobora la alta variabilidad que presentan los parámetros farmacocinéticos en los individuos de nuestra población. Para el análisis farmacocinético, utilizamos el paquete de Excel PKsolver, con el cual determinamos el AUC de 0 a 5 h, T<sub>máx</sub> y C<sub>máx</sub>. Para los análisis estadísticos de los parámetros utilizamos el software SPSS, con el cual determinamos los parámetros descriptivos de los parámetros, las medias de los parámetros derivados del APAP con respecto al sexo, la edad, el índice de masa corporal y los polimorfismos SULT1A1 rs1042028 y CYP1A2 rs762551. Además, realizamos análisis utilizando la prueba T de Student, ANOVA, ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis) y modelos de regresión lineal generalizados, utilizando como factores los parámetros farmacocinéticos y como covariables el sexo, la edad, el índice de masa corporal y los polimorfismos SULT1A1 rs1042028 y CYP1A2 rs762551.

## **RESULTADOS.**

El sexo es el factor ambiental más determinante en la variabilidad presentada en estos parámetros siendo el AUC 0→5h de paracetamol un 40% más alto en mujeres que en hombre (p valor <0,001) y el AUC 0→5h del APAP-S un 25% mayor en mujeres (p valor<0,001). Además, se ha observado que los individuos homocigotos mutados para el polimorfismo SULT1A1 rs1042028 presente un metabolismo del paracetamol sulfato disminuido, como se observa en los valores de AUC 0→5h y C<sub>máx</sub> del paracetamol sulfato (p valor 0,017 y 0,012, respectivamente).

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Tanto el sexo (Stanley et al., 2005) como la presencia de la mutación en SULT1A1 rs1042028 (Raftogianis et al., 1997) son factores que explican la variabilidad en la respuesta y metabolismo del paracetamol y podrían influir en el riesgo de desarrollo de reacciones adversas al paracetamol.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Mazaleuskaya, L. L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Fitzgerald, G. A., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2015). PharmGKB summary: Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenetics and Genomics*, 25(8), 416–426. <https://doi.org/10.1097/FPC.000000000000150>

Raftogianis, R. B., Wood, T. C., Otterness, D. M., Van Loon, J. A., & Weinshilboum, R. M. (1997). Phenol Sulfotransferase Pharmacogenetics in Humans: Association of Common SULT1A1 Alleles with TS PST Phenotype. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 239(1), 298–304. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.7466>

Stanley, E. L., Hume, R., & Coughtrie, M. W. H. (2005). Expression profiling of human fetal cytosolic sulfotransferases involved in steroid and thyroid hormone metabolism and in detoxification.

## DECODING LUNG CANCER: AI ADVANCEMENTS AS A DIAGNOSTIC TOOL

*Gina Alhakim*

*Universidad de Valencia. Departamento de Fisiología.*

### INTRODUCTION

Lung and bronchus cancer is the deadliest cancer in both men and women. The reason of its aggressiveness is that it evolves without symptoms during the early stages. It does not manifest and receive a diagnosis until late stages (3b/4) when conventional therapy options are limited and

ineffective. Low dose computed tomography scans (LDCT) is an effective detection method that most eligible patients are not being screened with. The revolution of Artificial Intelligence (AI), tools like Sybil have been created to optimise the reading of LDCT, increase accuracy and help predict individual risk. In this review we are going to discuss the current state of lung cancer diagnosis using AI tools.

## **MATERIALS AND METHODS**

A comprehensive bibliographic review, including searches on PubMed, scientific journals such as MPDI and Nature, and graphic replication from authoritative sources, forms the basis of this study.

## **RESULTS**

IA tools have been developed to help in the interpretation process improving accuracy and reducing waiting times. These AI are fed databases. Their role is to improve imaging inspection, histopathology examination and genomics inspection. Sybil has been developed with a deep learning algorithm, specifically for nodule detection, segmentation, and quantification. With one LDCT scan, Sybil is able to diagnose and predict the location of future cancer. The capacity of this tool to predict future risk reaches up to 6 years earlier.

## **DISCUSSION/CONCLUSION**

These AI tools have shown promising results. A diagnosis of lung cancer at early stages offers significantly higher successful treatment. For that, future broad implementation is desired. The challenges ahead to overcome include technical and personal issues, shortage of specialised equipment, and expert thoracic radiologists available to read low-dose CT scans. Within healthcare settings, AI should adhere to unified planning, comprehensive objectives, and standardised principles established by authoritative entities, offering refined details for seamless application in real-world situations.

## **BIBLIOGRAPHY**

Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68, 394–424 (2018).

Rajdev, K. et al. An Unusually Aggressive Large Cell Carcinoma of the Lung: Undiagnosed until Autopsy. *Cureus* (2018) doi:10.7759/cureus.2202.

Lemjabbar-Alaoui, H., Hassan, O. U., Yang, Y.-W. & Buchanan, P. Lung cancer: Biology and treatment options. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1856, 189–210 (2015).

The National Lung Screening Trial Research Team Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N. Engl. J. Med.* 2011;365:395–409. doi: 10.1056/NEJMoa1102873.



Bidzińska, J., & Szurowska, E. (2023). See Lung Cancer with an AI. *Cancers*, 15(4), 1321. <https://doi.org/10.3390/cancers15041321>

Lambin, P., Leijenaar, R. T. H., Deist, T. M., Peerlings, J., de Jong, E. E. C., van Timmeren, J., Sanduleanu, S., Larue, R. T. H. M., Even, A. J. G., Jochems, A., van Wijk, Y., Woodruff, H., van Soest, J., Lustberg, T., Roelofs, E., van Elmpt, W., Dekker, A., Mottaghy, F. M., Wildberger, J. E., & Walsh, S. (2017). Radiomics: the bridge between medical imaging and personalized medicine. *Nature reviews. Clinical oncology*, 14(12), 749–762. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.141>

Hwang, E. J., Goo, J. M., Kim, H. Y., Yoon, S. H., Jin, G. Y., Yi, J., & Kim, Y. (2021). Variability in interpretation of low-dose chest CT using computerized assessment in a nationwide lung cancer screening program: comparison of prospective reading at individual institutions and retrospective central reading. *European radiology*, 31(5), 2845–2855. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07424-1>

Chiu, H. Y., Chao, H. S., & Chen, Y. M. (2022). Application of Artificial Intelligence in Lung Cancer. *Cancers*, 14(6), 1370. <https://doi.org/10.3390/cancers14061370>

Ardila, D., Kiraly, A. P., Bharadwaj, S., Choi, B., Reicher, J. J., Peng, L., Tse, D., Etemadi, M., Ye, W., Corrado, G., Naidich, D. P., & Shetty, S. (2019). End-to-end lung cancer screening with three-dimensional deep learning on low-dose chest computed tomography. *Nature medicine*, 25(6), 954–961. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0447-x>

## RELACIÓN ENTRE AUTOFAGIA Y APOPTOSIS EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DE RETINAS DE POLLO

García Guirado, G., Fernández Durán, A., Rodríguez López, B., Mellen Rodríguez, M. A.

## **INTRODUCCIÓN**

La apoptosis es un proceso de muerte celular programada implicado en la homeostasis celular<sup>1</sup>. La autofagia es un proceso de autodegradación celular que recicla componentes celulares no funcionales y mantiene el suministro de ATP<sup>2</sup>. Son procesos distintos pero interconectados, puesto que ambos comparten vías de señalización comunes.

En este contexto, se lleva a cabo un proyecto con el objetivo de profundizar en la relación existente entre apoptosis y autofagia durante las primeras etapas del neurodesarrollo embrionario de la retina de pollo. Se elige este modelo experimental por su independencia materna, su bajo coste, su facilidad de manipulación y por la fácil visualización de las estructuras neuronales en desarrollo (retinas grandes).

En este trabajo se realizan ensayos de detección de apoptosis en una muestra control y una muestra tratada con el inhibidor autofágico 3-MA. Nuestra hipótesis sostiene que, al inhibir la autofagia, se produce el aumento de la apoptosis en las retinas.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se requieren condiciones control y 3-MA.

Tras la extracción de los núcleos, se lleva a cabo el marcaje TUNEL-FITC, que permite detectar la fragmentación del DNA por endonucleasas en la apoptosis. Requiere de un mix de reacción que incluye una enzima terminal-desoxinucleotidil-transferasa (TdT), la cual añade nucleótidos (dUTPs) a los extremos fragmentados. La medición de apoptosis se lleva a cabo mediante citometría de flujo.

La Anexina V-FITC señala la exposición de fosfatidilserina en la membrana externa de las células apoptóticas, medida por citometría de flujo.

Finalmente, se realiza la variante TUNEL-FITC en retinas en plano para su estudio cualitativo en el microscopio de fluorescencia (63X)

Se emplea T de Student para realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos.

## **RESULTADOS.**

Nuestra hipótesis inicial proponía que aumentaría la apoptosis al inhibir la autofagia, puesto que la autofagia es un mecanismo de supervivencia.

Los resultados obtenidos a través del primer experimento confirman la hipótesis inicial, ya que en la muestra 3-MA se detecta más apoptosis que en la muestra control. Se observan los núcleos mediante TUNEL-FITC para ver la rotura del DNA de ambas muestras.

Sin embargo, en el segundo experimento, los resultados fueron contradictorios, puesto que se detecta un nivel de apoptosis similar en ambas muestras, refutando la hipótesis inicial. Se observan las células mediante Anexina V.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Nuestros resultados parecen contradictorios a priori, porque se observa un aumento de la apoptosis tras la inhibición de la autofagia. Sin embargo, en el experimento que mide la presencia de fosfatidilserina en la membrana celular externa, se observan los mismos resultados en ambas muestras, lo que demuestra que no aumenta la apoptosis tras la inhibición de la autofagia.

Dada esta incongruencia entre los resultados, buscamos información en estudios previos de otros autores, gracias a los cuales encontramos una situación similar en un modelo parecido al nuestro. Tras la inhibición de la autofagia, otros autores han mostrado una disminución en los niveles de ATP, la cual es necesaria para la exposición de fosfatidilserina en la membrana celular externa de las células muertas, y sin la cual no serían reconocidas por los macrófagos, por lo que encontraron una acumulación de cuerpos apoptóticos<sup>3</sup>. Gracias a este previo análisis por otros autores, podríamos concluir que el efecto que encontramos en las retinas tras la inhibición de la autofagia no provoca un incremento de la muerte, sino una disminución de la fagocitosis.

Para su comprobación, proponemos un futuro experimento con metilpiruvato (MP), un análogo de piruvato que participa en la producción celular de ATP. Si encontramos una disminución de los niveles de ATP, al suministrar de nuevo MP, podríamos permitir la translocación de fosfatidilserina hacia la membrana externa para que así sea reconocida por las células vecinas. De esta manera, incluso en el tratamiento con 3-MA, la adición de MP reduciría de nuevo los niveles de las células TUNEL-FITC+.

Gracias a estos resultados, abrimos una nueva vía de relación entre la autofagia y la apoptosis en el sistema nervioso central en el desarrollo, lo que puede ser una futura diana de nuevas terapias para enfermedades del neurodesarrollo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Kaczanowski, S. (2016, 11 mayo). Apoptosis: its origin, history, maintenance and the medical implications for cancer and aging. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27172135/>
- Glick, D. (2010). Autophagy: cellular and molecular mechanisms. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20225336/>

- Mellén, M. A., de la Rosa, E. J., & Boya, P. (2008). The autophagic machinery is necessary for removal of cell corpses from the developing retinal neuroepithelium. Cell death and differentiation, 15(8),1279–1290. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.40>.

## QUÍMICA BIORTOGONAL EN BIOMEDICINA

*Eva Martín Sarrate*

*Universitat de València*

### INTRODUCCIÓN

La química biortogonal fue desarrollada por Caroline Vertozzi, que en 2022 fue galardonada con el Nobel de Química por sus investigaciones en este campo. Consiste en la unión específica, rápida y eficiente entre dos biomoléculas in vivo mediante grupos funcionales que se relacionan covalentemente. De esta manera se evitan las reacciones cruzadas y la formación de subproductos, pudiéndose emplear para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. La compañía Sashqi, aplica la química de click en la que basan las actuales tecnologías biortogonales para tratamientos anticancerosos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En la localización y tratamiento tumoral, se introduce una plataforma de protomedicamentos activados por click contra el cáncer (CAPAC) que permite la activación dirigida de medicamentos en un tumor. CAPAC consiste en un biopolímero modificado con tetrazina, localizado en regiones próximas al tumor y un profármaco con el grupo TCO. El biopolímero captura el profármaco en el sitio deseado mediante una rápida reacción covalente entre los restos Tz y TCO, seguida del reordenamiento químico para liberar el fármaco activo. De esta forma tan solo se libera el fármaco en zonas próximas al tumor, pudiéndose aplicar en concentraciones más pequeñas para evitar toxicidad.

### RESULTADOS

Como resultado, se observó la posibilidad de introducir altas cantidades de fármaco en el organismo por vía intravenosa sin efectos adversos a diferencia de lo que ocurre convencionalmente. Además, se observaron complicaciones debidas a la baja solubilidad del profármaco. Por otra parte, también se comprobó el aumento de supervivencia en aquellos organismos (ratones) que presentaban tumores cuando se aplicaba CAPAC, en vez del fármaco mediante técnicas convencionales.

### DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Como conclusión principal, tras los resultados obtenidos se puede afirmar la relevancia que presenta el uso de la química biortogonal para el tratamiento de enfermedades. Aunque aún es

objeto de investigación, no hay dudas sobre el potencial que conllevaría su aplicación en seres humanos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Wu K, Yee NA, Srinivasan S, Mahmoodi A, Zakharian M, Mejia Oneto JM, Royzen M. Click activated prodrugs against cancer increase the therapeutic potential of chemotherapy through local capture and activation. Chem Sci. 2021 Jan 5;12(4):1259-1271. doi: 10.1039/d0sc06099b. Erratum in: Chem Sci. 2021 May 21;12(21):7583. PMID: 34163888; PMCID: PMC8179178.

- <https://www.dciencia.es/quimica-bioortogonal-cuando-la-quimica-hace-click/> -  
[https://youtu.be/soRNs\\_aDYrM](https://youtu.be/soRNs_aDYrM)

# MOLECULAR CHARACTERIZATION OF WOLBACHIA wMEL IN NATIVE POPULATIONS OF DROSOPHILA FOR ITS APPLICATION IN BIOCONTROL OF THE TIGER MOSQUITO IN VALENCIA.

Esther Parra<sup>a</sup>, David Saiz<sup>a</sup>, Rebeca Domínguez-Santos<sup>a</sup>, Emilio Garrote<sup>a</sup>, Messaoud Khoubbane<sup>a</sup>, Antonio Marcilla<sup>b</sup>, Rosario Gil<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Program for Evolutionary Systems Biology of Symbionts, Institute for Integrative Systems Biology (I2SysBio), University of Valencia-CSIC, <sup>b</sup>Parasitology Unit, Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia

## INTRODUCCIÓN

In recent years, research has been conducted to control insect pests without using insecticides. In this context, *Wolbachia pipientis*, an endosymbiotic alphaproteobacteria widely distributed among terrestrial arthropods, has been integrated into various vector control programs for mosquito management, taking advantage of the death of the embryos caused by cytoplasmic incompatibility between the gametes of parentals infected with strains obtained from different species (Incompatible Insect Technique, ITT). Thus, the wMel strain, isolated from *Drosophila melanogaster*, has been shown to have a blocking effect on fertility when male tiger mosquitoes *Aedes albopictus* that have been infected with this strain mate with females carrying the common *Wolbachia* strains in this species (wAlbA and wAlbB). In this study, we present the molecular characterization of *Wolbachia* from native populations of *D. melanogaster* captured in Requena (Valencia) and isolines obtained from them, as a first step for the selection of one or more native strains to analyze the effects of their introduction in a population of *Ae. albopictus* previously cured of *Wolbachia*. The aim is to apply this technique in Valencia to reduce the population of *Ae. albopictus*, which is capable of transmitting several infectious diseases, including those caused by the Chikungunya, Dengue and Zika viruses.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

In this study we used samples of adult *D. melanogaster* insects from collected in Requena (Valencia) during the last harvest season, and isolines obtained from previous seasons provided by the Behaviour and Evolution Laboratory of the Cavanilles Institute of Biodiversity and Evolutionary Biology (ICBiBE, UV). DNA extraction was performed with the JETFLEX Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher) applied to individual insects. After checking the quality and quantity of DNA in each sample with the Nanodrop 1000 spectrophotometer (Thermo Scientific), molecular analysis was performed by means of PCR amplification following the protocol described by Riegler et al. (2005) and Riegler et al. (2012) and purification using the ammonium acetate precipitation protocol. Finally, the amplicons of interest were sequenced using the automated Sanger technique (Genomics Service of the SCSIE, UV) and these sequences were analysed with the Staden package.

## RESULTADOS.

The study has shown that most of the populations analysed contain Wolbachia. In addition, there is a high prevalence of wMel among the infected populations, both in females and males, and among them, we found polymorphisms in only one population for five of the molecular markers studied.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Most of the analysed populations of *Drosophila melanogaster* contain Wolbachia and two wMel haplotypes have been identified. Our intention is to analyse whether the two detected genotypes differ in their ability to produce Cytoplasmic Incompatibility in *Ae. albopictus*. We will select the strain of interest to perform its genomic study and check if it is feasible to use it in the biocontrol of *Ae. albopictus* in Valencia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Blagrove, MS, Arias-Goeta, C, Failloux, AB. and Sinkins, S., & P. (2012). Wolbachia strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 109(1), 255–260.
2. Bueno-Marí, R., Domínguez-Santos, R., Trelis, M., Garrote-Sánchez, E., Cholvi, M., Quero de Lera, F., Khoubbane, M., Marcilla, A., & Gil, R. (2023). Infecciones por Wolbachia pipientis en poblaciones de *Aedes albopictus* en la ciudad de Valencia (España): implicaciones para el control de mosquitos. *Revista Española de Salud Pública*, 97.
3. Riegler, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Woolfit, M., Miller, W. J., & O'Neill, S. L. (2012). Tandem repeat markers as novel diagnostic tools for high resolution fingerprinting of Wolbachia. *BMC Microbiology*, 12(SUPPL. 1).
4. Riegler, M., Sidhu, M., Miller, W. J., & O'Neill, S. L. (2005). Evidence for a global Wolbachia replacement in *Drosophila melanogaster*. *Current Biology*, 15(15), 1428–1433.
5. Sicard, M., Bonneau, M., & Weill, M. (2019). Wolbachia prevalence, diversity, and ability to induce cytoplasmic incompatibility in mosquitoes. In *Current Opinion in Insect Science* (Vol. 34, pp. 12–20). Elsevier Inc.

# ROLE OF ACTIN AND MYOSIN IN THE PROCESS OF INTESTINAL CELL EXTRUSION

*López Serrano E., Matejčić M, Trepāt X.*

*Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC)*

## INTRODUCTION

The intestinal epithelium undergoes continuous rapid self-renewal, enabled by the proliferation of stem cells that reside at the bottom of highly curved invaginations called crypts and by the loss of cells at the tip of finger-like intestinal protrusions called villi. Here, differentiated cells are extruded into the intestinal lumen at high numbers. Proper regulation of cell extrusion is crucial for maintaining the folded intestinal structure and maintain homeostasis. An extrusion upregulation can lead to the loss of villi and the loss of the epithelial barrier integrity, a phenomenon observed in inflammatory bowel disease or in Chron's and celiac diseases. Conversely, an extrusion downregulation can indirectly generate intestinal polyps, a pre cancerous phenotype. Despite it being essential for maintaining intestinal health and function, the mechanism behind intestinal cell extrusion is not known (Pérez-González et al., 2021). We hypothesize that mechanical forces are at the core of the execution and regulation of the intestinal cell extrusion process. To identify these mechanical mechanisms, state-of-the-art open-lumen organoids will be used. Myosin and Arp2/3 (implicated in branched actin networks) knock-out (KO) cells of mouse intestinal organoids will be grown on synthetic gel substrates to measure the forces during the extrusion process, allowing us to assess the role of these cytoskeleton proteins in the contractility, adhesion and protrusivity of the extruding cells in the intestinal epithelium.

## MATERIAL AND METHODS

To generate the samples, 3D mouse intestinal organoids will be mechanically dissociated into crypts and seeded on a gel substrate consisting on soft (5KPa) polyacrylamide (PAA) gels containing a layer of fluorescent beads (0,2  $\mu\text{m}$ , 660-680 nm emission wavelength) on top. These beads will be used to track the deformation of the gel substrate and calculate the forces exerted by the epithelial monolayer on its underlying substrate using Traction Force Microscopy (-60 minutes before to 30 minutes after extrusion).

The images obtained using the spinning disc and point-scanning confocal systems will be analyzed with Fiji, Cell Pose and MATLAB Softwares. Myosin IIa and Arp2/3 gene knock-out in flox-system mouse organoids will be induced by 48h incubation in 4-OH Tamoxifen. Samples will be imaged >4 days after knockout induction. The function of myosin and actin branching will also be perturbed pharmacologically using blebbistatin and CK666 inhibitors, respectively.



## **RESULTS**

Myosin KO organoids were successfully grown as open-lumen organoids on synthetic gels. We have also confirmed that cell extrusion indeed occurs in this experimental model and performed initial measurements of traction forces.

## **DISCUSSION / CONCLUSIONS**

The experimental strategy was successfully tested, and immediate future experiments will repeat traction force calculation in Myosin KO open-lumen organoids. The same experimental strategy will be used with CK666-treated organoids to perturb actin branching and misorient basal cell protrusions. The expected results could follow one of the following hypotheses: (1) Intestinal cells extrude via a protrusion-based mechanism when myosin is unavailable (Myosin KO condition); (2) Intestinal cells extrude via a contraction-based mechanism and their neighbors display misoriented lamellipodia when branched actin function is perturbed (CK666 condition).

These findings will deepen our understanding of intestinal cell extrusion mechanics. Moreover, if myosin and/or actin are identified as crucial, the established experimental model could facilitate the study of single cell roles and unravel broader molecular mechanisms, bridging the gap between cellular and tissue-level understanding.

## **BIBLIOGRAPHY**

Pérez-González, C., Ceada, G., Greco, F., Matejčić, M., Gómez-González, M., Castro, N., Menendez, A., Kale, S., Krndija, D., Clark, A. G., Gannavarapu, V. R., Álvarez-Varela, A., Roca-Cusachs, P., Batlle, E., Vignjevic, D. M., Arroyo, M., & Trepats, X. (2021). Mechanical compartmentalization of the intestinal organoid enables crypt folding and collective cell migration. In *Nature Cell Biology* (Vol. 23, Issue 7). Springer US. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00699-6>

# 'RED BULL NO TE DA ALAS': ANÁLISIS DE BEBIDAS ENERGÉTICAS

*Elena Gálvez Gutiérrez, Óscar Arcos García, María del Mar García Aguilera, Paula Jiménez Mora, Isabel López Alcázar, María Teresa Mesa Gómez, Carolina Rodríguez Ruiz, David Martín Rodríguez, Juan Pablo Iglesias Ahualli, Santiago Maldonado Álvarez, Romina Paula Monasterio y Alegría Carrasco Pancorbo.*

*Universidad de Granada*

## INTRODUCCIÓN

Hace unos meses noticias como: 'Sanidad quiere prohibir la venta de bebidas energéticas a menores de todo el país' acaparaban los medios. Esto despertó nuestra curiosidad (¿realmente eran tan perjudiciales cómo se decía?) y nos motivó a desarrollar este proyecto de cara a demostrar, con la determinación cuali/cuantitativa de ciertos analitos de interés (cafeína, vitaminas del grupo B, sórbico y benzoico), la peligrosidad del consumo de estos productos para la salud, desde un punto de vista integral. Asimismo, realizar un ranking en base a la nocividad de los distintos productos del mercado.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Para este proyecto de investigación, se realizó un análisis mediante UHPLC acoplada a 3 detectores: diode array, fluorescencia y espectrometría de masas. Además, se determinó el pH de las bebidas analizadas (pHmetro). La preparación de las muestras (11 bebidas energéticas existentes en el mercado y 3 alternativas ricas en cafeína 'saludables': VitaminTea, Go Mate y Coca Cola) consistió en una desgasificación mediante ultrasonidos. Una vez desgasificadas se realizó el análisis mediante UHPLC, junto con la determinación del pH. Además, se hizo una profunda optimización de las condiciones cromatográficas empleadas, hasta alcanzar condiciones óptimas.

Para validar el método se evaluaron: la repetibilidad y la veracidad. Para la repetibilidad se introdujeron diversas inyecciones control (una mezcla de todas las bebidas analizadas), además de tres muestras inyectadas por duplicado. Para analizar la veracidad, se inyectó una muestra 'misterio' con composición y concentraciones desconocidas por la mayor parte del grupo.

## RESULTADOS.

Tras validar el método, se realizó un análisis cualitativo (en función de los tiempos de retención) y cuantitativo (gracias a la integración del área del pico) de los analitos de interés, a 285 nm.

Así, pudimos cuantificar la cafeína, compararla con la bibliografía existente (el etiquetado de la lata) y determinar los posibles efectos secundarios asociados a su consumo: insomnio, desorientación o ansiedad, entre otros. Igualmente, se realizaron determinaciones cuantitativas

de sórbico y benzoico, dos conservantes muy empleados en este tipo de productos y cuyo exceso se encuentra asociado con: problemas digestivos, daños hepáticos, etc.

En base a estos tres analitos se planteó un 'Ranking de nocividad', liderado por la bebida Reign, considerando el % que supone su ingesta con respecto a la dosis máxima recomendada, teniendo presente tanto el volumen por lata como la concentración de los analitos calculada.

Además, se analizaron las vitaminas B2 y B6, ya que, a pesar de ser hidrosolubles, su ingesta se asocia con riesgo de hipervitaminosis. Por último, se evaluó el pH, siendo la Coca cola la más ácida. Esto puede tener consecuencias para la salud, especialmente dental.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Concluimos, las bebidas energéticas son tan perjudiciales como dicen y su consumo en exceso alberga numerosos riesgos para la salud. Nuestro estudio aporta una visión integral en este campo, ya que valora los diversos analitos potencialmente dañinos en conjunto, a diferencia de la información pre existente. Frenar el consumo de bebidas energéticas en menores es crucial para asegurar su correcto desarrollo y un paso muy a favor es la divulgación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Rubio, C. (2021). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los riesgos asociados al consumo de bebidas energéticas: Informe bebidas energéticas AESA [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/evaluacion\\_riesgos/informes\\_comite/BEBIDAS\\_ENERGETICAS.pdf](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/BEBIDAS_ENERGETICAS.pdf)
2. Gliszczyńska-Świąto, A., & Rybicka, I. (2014). Simultaneous determination of caffeine and water-soluble vitamins in energy drinks by HPLC with photodiode array and fluorescence detection. *Food Analytical Methods*, 8(1), 139–146. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9880-0>
3. Kregiel, D. (2015). Health safety of soft drinks: Contents, containers, and microorganisms. *BioMed Research International*, 2015, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/128697>
4. Rabiou, S., Abubakar, M. G., Sahabi, D. M., Makusidi, M. A., Dandare, A., & Bello, J. H. (2021). Benzoic acid based beverages: health implications. *Asian Food Science Journal*, 93-105. <https://doi.org/10.9734/afsj/2021/v20i430290>

# IMPACTO ESTRUCTURAL DE MUTACIONES EN TXD15 (THIOREDOXIN DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 15) COMO POTENCIAL CAUSA DE CILIOPATÍAS

Cristina Lázaro Ruiz

Universidad de Zaragoza

## INTRODUCCIÓN

El cilio primario es un orgánulo presente en la mayoría de las células del cuerpo humano, participando en procesos biológicos tan importantes como la transducción de señales. Las ciliopatías son un grupo de trastornos genéticos heterogéneos relacionados con alteraciones en este cilio primario. En función de la proteína mutada, las ciliopatías se clasifican en distintos síndromes. En el caso de la TXD15 (código UniProt Q96J42) a pesar de no ser una proteína ciliar, se sabe que se asocia hasta con 224 proteínas que forman parte del cilio primario. Mutaciones en esta proteína se asocian al Síndrome de Merckel-Gruber y al Síndrome de Joubert. En este trabajo, se estudia la estructura de dicha proteína y el potencial impacto que la mutación no conservativa del residuo R235 puede tener en el mantenimiento de su conformación tridimensional, concretamente en el mantenimiento de una hélice  $\alpha$  comprendida entre los residuos 305-313.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se han usado distintas herramientas bioinformáticas para la caracterización estructural y funcional de TXD15:

- Bases de datos como UniProt para la obtención de la secuencia y e información acerca de la proteína.
- El servidor en línea AlphaFold para la predicción del plegamiento de la proteína, tanto de la forma nativa como de la forma R235W.
- GROMACS para llevar a cabo una dinámica molecular a 310K y durante 200ns, tanto de la forma nativa como de la forma mutada.
- PyMOL y VMD para la visualización de las estructuras y las trayectorias de la dinámica molecular.

## RESULTADOS

-La base de datos AlphaFold contiene una predicción de la estructura de la proteína TXD15, donde encontramos distintos componentes:

- El servidor SignalP predice la presencia de un péptido señal entre los residuos 1-32.
- El servidor TMHMM predice la presencia de una región transmembrana entre los residuos 320 y 360.

- Una gran región desordenada entre los residuos 1-170.
- Un dominio tiorredoxina, entre los residuos 170-296.

-La simulación mediante dinámica molecular a 310 K de la región 170-320, para la proteína nativa y el mutante R235W, indican que la presencia de un triptófano en la posición 235 provoca el desplegamiento de la hélice  $\alpha$  comprendida entre los residuos 305-313.

## CONCLUSIÓN

Explorar el impacto conformacional que diversas mutaciones pueden tener sobre la estructura de TXD15 contribuiría a esclarecer el mecanismo que asocia mutaciones en dicha proteína con diferentes ciliopatías. En este trabajo, se ha determinado que la interacción que se produce entre la R235 y el D309 es clave para mantener la región 305-313 compactada junto al módulo tiorredoxina de TXD15.

## BIBLIOGRAFÍA

Abdelhamed, Z. A., Wheway, G., Szymanska, K., Natarajan, S., Toomes, C., Inglehearn, C., & Johnson, C. A. (2013). Variable expressivity of ciliopathy neurological phenotypes that encompass Meckel–Gruber syndrome and Joubert syndrome is caused by complex de-regulated ciliogenesis, Shh and Wnt signalling defects. *Human Molecular Genetics*, 22(7), 1358–1372. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds546>

GROMACS Development Team. (2023). GROMACS: Versión 2023.3-Homebrew. [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org).

PyMOL. (2023). The PyMOL Molecular Graphics System, Version Open-Source, 2022-12-203. Schrödinger, LLC.

Wheway, G., Nazlamova, L., & Hancock, J. T. (2018). Signaling through the primary cilium. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 6, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00008>

# OPTICAL GENOME MAPPING SOLVES UNSUCCESSFUL KARYOTYPES IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

López-Benet C<sup>1</sup>, Avetisyan G<sup>2</sup>, Díaz-González A<sup>2</sup>, García-Ruiz C<sup>2</sup>, Torres Hernández N<sup>2</sup>, Such E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hematology Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IISLAFE) <sup>2</sup>Department of Hematology, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, 46026 Valencia, Spain.

## INTRODUCTION

Acute lymphoblastic leukemia is the predominant form of cancer in children, and it originates from the malignant transformation of B-cell or T-cell progenitors. Prognostic factors include age, cellular morphology, and chromosomal abnormalities. Therefore, cytogenetic assessment is essential for risk stratification. Conventional cytogenetic techniques mainly encompass chromosomal banding analysis (CBA) and fluorescence in situ hybridization (FISH). However, these techniques have limitations as FISH requires a specific target alteration, and up to 15% of CBA results are non-informative due to the low resolution of the chromosomes, cryptic abnormalities, and low proliferation of neoplastic cells. In recent years, the availability of Optical Genome Mapping (OGM) has been a revolution in cytogenetic laboratories as it overcomes the limitations of standard techniques and detects all structural alterations (SVs) and copy number variations (CNVs) in a single workflow.

In this preliminary work we wanted to demonstrate the usefulness of the OGM in patients with unsuccessful karyotype. Clinically relevant alterations have been detected by OGM in all patients.

## MATERIALS AND METHODS

All cases were analyzed by CBA and FISH following the conventional workflow and standard procedures. To perform OGM, ultra-high molecular weight (UHMW) DNA (gDNA) was extracted from bone marrow samples following the manufacturer's protocols (Bionano Genomics). Then, UHMW DNA was fluorescently marked with the DLE-1 enzyme and loaded on a Shapyr chip (Bionano genomics). Data were analyzed with Bionano Access™ and structural variants were called against the human reference GRCh38 assembly.

## RESULTS

Five patients with unsuccessful karyotype were included (4 ALL-B and 1 ALL-T). Patient #1 had 3 copies of AF1, CRLF2 and HLF and patient #3 had an ETV6::RUNX1 rearrangement detected by FISH. FISH was not assessable in patient #2 and negative in patients #4 and #5.

OGM analysis:

Patient #1: OGM confirmed a hyperdiploid karyotype and reported the exact number of chromosomes. Additionally, a deletion was detected in chromosome 9 that implied the partial loss of PAX5.

Patient #2: OGM detected a translocation t(9;22)(q34.12;q11.23) involving the BCR::ABL1 rearrangement; a trisomy of chromosomes X, 5, and 10; and deletions in chromosomes 7 and 9 that involved IKZF1 and CDKN2A/CDKN2B respectively.

Patient #3: OGM confirmed the translocation t(12;21) that produced the ETV6::RUNX1 fusion gene and detected a deletion on chromosomes 9 and 12 that implied the loss of CDKN2A/CDKN2B and BTG1, respectively.

Patient #4: a deletion was detected by OGM in the chromosome 9, which implied the partial loss of MLLT3, the loss of PAX5, and the homozygous loss of the CDKN2A/CDKN2B genes.

Patient #5: OGM showed a deletion on chromosome 1 that produced the STIL::TAL1 fusion gene; deletion on chromosome 9 that implied the loss of CDKN2A/CDKN2B; and a deletion on chromosome 11 that caused the loss of LMO2.

## **DISCUSSION/CONCLUSION**

In this preliminary series of patients, OGM is positioned as a promising diagnostic alternative to patients with unsuccessful karyotypes. Moreover, OGM has shown a more complex cytogenetic landscape in these patients. The extension of this technique to a larger cohort of patients may show the role of the new alterations or rearrangements detected.

## **BIBLIOGRAPHY**

National Cancer Institute. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (PDQ®). (2023, 30 junio). <https://www.cancer.gov/types/leukemia/hp/adult-all-treatment-pdq>

Coccaro, N., Anelli, L., Zagaria, A., Tarantini, F., Cumbo, C., Tota, G., Minervini, C. F., Minervini, A., Conserva, M. R., Redavid, I., Parciante, E., Macchia, M. G., Specchia, G., Musto, P., & Albano, F. (2023b). Feasibility of optical genome mapping in cytogenetic Diagnostics of hematological neoplasms: A new way to look at DNA. *Diagnostics*, 13(11), 1841. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13111841>

Vieler, L., Nilius-Eliliwi, V., Schroers, R., Vangala, D. B., Nguyen, H. P., & Gerding, W. M. (2023b). Optical genome mapping reveals and characterizes recurrent aberrations and new fusion genes in adult ALL. *Genes*, 14(3), 686. <https://doi.org/10.3390/genes14030686>

# QUANTIFICATION OF ACRYLAMIDE CONTENT IN POPCORN USING A SUSTAINABLE EXTRACTION METHOD

Carmen Fernández-Matarredona <sup>1</sup>, Albert Sebastià<sup>1</sup>, Francesc Ramón<sup>1</sup>, Sara Efe<sup>1</sup>, Houda Berrada<sup>2</sup>, Emilia Ferrer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Group in Innovative Technologies for Sustainable Food (ALISOST), Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Valencia, Spain

<sup>2</sup> Research Group in Alternative Methods for Determining Toxic Effects and Risk Assessment of Contaminants and Mixtures (RiskTox), Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Valencia, Spain

## INTRODUCTION

Acrylamide (AA) is a process contaminant compound that is formed in foods containing reducing sugars and free amino acids when processed using a heat source, above 120 °C. AA is formed through the Maillard reaction and is synthesized mainly from glucose and asparagine.

In addition, there are some foods that are more likely to contain AA like coffee, nuts, potatoes, and cereal-based products such as corn snacks and popcorn. Moreover, consumption of corn snacks and popcorn has increased since the 2020 pandemic, highlighting the need to control AA levels in these products.

AA is absorbed from the gastrointestinal tract and metabolised as Glycidamide (GA). GA is the metabolite responsible of the carcinogenicity and genotoxicity of the AA. The International Agency for Research on Cancer (IARC) concluded that AA belongs to 2A group, so it is probably carcinogenic to humans. Further studies are needed to assess the dose-response effect in humans, however, studies in animals suggest possible critical endpoints for AA toxicity, such as, adverse effects on male reproduction, neurotoxicity, and carcinogenicity.

The objective of this study is to detect the presence and calculate the amount of AA in corn kernel and microwave popcorn samples from Spanish supermarkets to amplify the data available regarding these foods.

## MATERIAL AND METHODS

A modified QuEChERS extraction method is used, which includes a liquid extraction with MilliQ water, followed by purification of the extract using non-contaminating salts such as MgO and ZnSO<sub>4</sub>. The presence of acrylamide is then determined by liquid chromatography coupled to mass spectrometry.

The popcorn used as a sample was cooked in two different ways, depending on the cooking required: popcorn samples were cooked in the microwave for 3 minutes at 700 W, following the manufacturer's instructions, and corn kernel samples were cooked using a popcorn popper for 2 min.



## RESULTS

The method validated was applied to 14 commercial samples of microwave popcorn and 1 of corn kernel. The results show that AA is present in 100% of the samples with a mean content of microwave popcorn is  $247 \pm 66 \mu\text{g/Kg}$  and a mean content of  $302 \pm 13 \mu\text{g/Kg}$  in the corn kernel sample. Concretely, the 7 salty microwave samples have a mean content of  $225 \pm 42 \mu\text{g/Kg}$ , the 3 sweet microwave samples  $227 \pm 56 \mu\text{g/Kg}$  and the 3 butter microwave samples  $318 \pm 29 \mu\text{g/Kg}$ .

As observed, butter microwave samples are the ones with more AA content and further studies should be done with more samples.

## CONCLUSIONS

Due to the increasing consumption of snacks, especially popcorn, and the concentrations of AA we found in this study, overall, we came to the conclusion that a monitorization of the levels of AA might be done and, also, a benchmark dose may be established for snacks in order to reduce the AA intake.

## BIBLIOGRAPHY

IARC. (1994). Acrylamide. <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono60-16.pdf>

Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. (2021). Base de datos de consumo en hogares - Alimentación - Snacks aperitivos. <https://www.mapa.gob.es/app/consumo-en-hogares/consulta11.asp>

EFSA CONTAM Panel. (2015). Scientific opinion on acrylamide in food. EFSA J, 13(4104), 321. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2015.4104>

Sebastià, A., Pallarés, N., Bridgeman, L., Juan-García, A., Castagnini, J. M., Ferrer, E., Barba, F. J., & Berrada, H. (2023). A critical review of acrylamide green extraction and determination in food matrices: Current insights and future perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 167, 117267. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2023.117267>

# ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS AUTOENSAMBLADAS EN UN ELR ANFIFÍLICO NEGATIVO Y NEUTRO UTILIZANDO MODELOS DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS

*Brandon Santiago Guillazaca Gonzalez, Israel Gonzalez de Torre*

*Universidad de Valladolid*

## INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de aportar al campo de la bionanotecnología y la biofísica, esta investigación se centra en el análisis detallado de las interacciones de nanopartículas, específicamente derivadas de dos recombinámeros tipo elastina (ELR) con moléculas aniónicas negativas y neutras que su estructura está compuesta en dibloque. La justificación de este trabajo radica en la creciente importancia de comprender las interacciones a nivel físico, biológico y químico a nivel nanométrico para llevar a cabo aplicaciones en el área de la biotecnología e incluso en ciencia de los materiales para investigaciones en medicina avanzadas. Con el objetivo de investigar el comportamiento y las propiedades de los ELR en un modelo de membrana Langmuir funcionalizadas con moléculas anfifílicas, con la aspiración de proporcionar contribuciones significativas al panorama de la investigación biomédica actual y desarrollar nuevas investigaciones en el desarrollo de nuevos biomateriales que sean capaces de presentar una correcta biocompatibilidad con los sistemas biológicos.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

La metodología se diseñó meticulosamente para abordar cada faceta del estudio. Desde la determinación de la temperatura de transición de autoensamblado mediante espectrofotometría, hasta la caracterización del tamaño de las nanopartículas y la diferencia de potencial a través de técnicas avanzadas como dinámica de luz (DLS) y el análisis del potencial Zeta de los biopolímeros ELR. Además, se implementaron técnicas de mediciones de muy alta resolución como es la microbalanza de cuarzo con disipación (QCM-D) y el microscopio de fuerza atómica (AFM) lo que permite la observación del cambio de masa del orden de decenas de nanogramos o una densidad de masa por debajo de  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Con el fin de complementar estas técnicas se utilizó el ángulo de contacto para evaluar las propiedades hidrofóbicas de las nanopartículas de ELR y de las interacciones de los biopolímeros de ELR en forma de películas en las membranas biológicas.

## RESULTADOS.

Los resultados revelaron que el ELR de tipo SI mostró una interacción más intensa con las moléculas anfifílicas, formando capas compactas y robustas. En contraste, el ELR de tipo EI exhibió interacciones menos eficientes, generando capas más suaves y menos densas. La aplicación de técnicas avanzadas como DLS y QCM-D no solo proporcionó detalles precisos sobre el tamaño de las nanopartículas, sino que también ofreció una comprensión detallada de su comportamiento en las capas depositadas por su contribución de resultados por medio de las frecuencias de resonancia y la disipación al interactuar los ELR con las membranas biológicas.

## **DISCUSIÓN / CONCLUSIONES**

Este estudio se traduce en contribuciones significativas al campo de la investigación biomédica, al proporcionar un entendimiento profundo de las interacciones a nivel molecular. Al integrar enfoques multidisciplinarios, proporciona información valiosa para avanzar en aplicaciones biomédicas y biotecnológicas. La contribución de este trabajo se proyecta en el desarrollo de estrategias innovadoras para el encapsulamiento y la liberación controlada de fármacos y la mejora de terapias basadas en nanopartículas, consolidando así el vínculo entre la física, la biología, la química y la bionanotecnología en el ámbito de la biofísica.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Rodríguez-Cabello, J. C., De Torre, I. G., Acosta, S., Salinas, S., & Herrero, M. (2018). Elastin-like proteins: molecular design for self-assembling. En Elsevier eBook (pp. 49-78). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102015-9.00004-6>.

Acosta, S., Pooza, L., Quintanilla-Sierra, L., & Rodríguez-Cabello, J. C. (2020). Charge density as a molecular modulator of nanostructuring in intrinsically disordered protein polymers. *Biomacromolecules*, 22(1), 158-170. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00934>.

Girotti, A., Fernández-Colino, A., López, U. M., Rodríguez-Cabello, J. C., & Arias, F. J. (2011). Elastin-like recombinamers: biosynthetic strategies and biotechnological applications. *Biotechnology Journal*, 6(10), 1174-1186. <https://doi.org/10.1002/biot.201100116>.

Despanie, J., Dhandhukia, J., Hamm-Alvarez, S.F., & MacKay, J. A. (2016b). Elastin-like polypeptides: therapeutic applications for an emerging class of nanomedicines. *Journal of Controlled Release*, 240, 93-108. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.11.010>.

# DISCOLORACIÓN DENTAL PROVOCADA POR CEMENTOS SELLADORES HIDRÁULICOS Y SU RESPUESTA AL BLANQUEAMIENTO DENTAL

Bautista A., Llena MC.,

Universitat de València

## INTRODUCCIÓN

El potencial de discoloración de los cementos hidráulicos, utilizados como cementos selladores en endodoncia, así como su respuesta al blanqueamiento ha sido poco estudiado en la literatura. De algunos cementos ni siquiera ha sido estudiado, como el caso de Bioroot RCS (incluido en la presente investigación). Los tiempos de seguimiento de la evolución del color son cortos en los estudios disponibles, y pocos estudios son relativos a la respuesta al blanqueamiento. Todo lo mencionado anteriormente justifica el presente trabajo experimental. Se planteó como objetivo principal evaluar, mediante espectrofotometría, el cambio de color tras el blanqueamiento dental de dientes que habían sido obturados 3 años antes con cementos selladores biocerámicos y su estabilidad a medio y largo plazo.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

En 40 dientes extraídos, se realizó el tratamiento de conductos y se sellaron utilizando 3 cementos AHPlus (AH+), TotalFill BC Sealer (TF), Bioroot RCS (BR), el control negativo (CN) se selló solo con gutapercha. Se conservaron 3 años en solución salina que se cambiaba semanalmente (Athanassiadis y cols., 2022). Se sometieron a 3 sesiones de blanqueamiento interno. Se determinó el color antes de la endodoncia, a los 3 años de la obturación, tras uno, 6, 12, y 24 meses del blanqueamiento, en la porción coronal y gingival. Los datos se analizaron mediante el test ANOVA de dos vías para medidas repetidas. Se utilizó un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS.

A los 3 años todos los grupos mostraron una reducción significativa de la luminosidad, de  $a^*$  y  $b^*$ . Tras el blanqueamiento, la luminosidad mejoró los grupos ( $p < 0,05$ ), reduciéndose a partir de los 6 meses. El  $\Delta E_{ab}$  no mostró cambios significativos entre los grupos tras el blanqueamiento. El  $\Delta E_{00}$  mostró un empeoramiento del color no aceptable a los tres años. Tras el blanqueamiento, el grupo AH+ mejoró a un valor de 3,7 (muy efectivo) y en el resto de los grupos por encima de 5,4 (excelente) (Paravina y cols., 2019). Los valores fueron descendiendo con el tiempo, manteniéndose en rangos de efectividad en los grupos CN, TF y BR.

## DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Tras consultar la literatura, Forghani y colaboradores en su estudio de 2016, a los 6 meses de seguimiento del material iRoot (equivalente en composición a Totalfill BC Sealer), encontraron valores de  $\Delta E_{ab}$  ligeramente inferiores a los del presente estudio (Forghani y cols., 2016). Por otro lado, Kohli y colaboradores en 2015, al estudiar el cemento Endosequence (equivalente en composición a Totalfill BC Sealer y a iRoot), obtuvieron resultados similares a los 6 meses de

seguimiento (Kohli y cols., 2015). Cabe destacar, que no existe publicado en la literatura actual un estudio de estas características con seguimiento del color durante tanto tiempo como el presente. Los grupos en los que se utilizaron cementos hidráulicos mostraron una mejor respuesta al blanqueamiento dental que el grupo AH+ a corto plazo, igualándose su comportamiento a medio y largo plazo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Athanassiadis, B., Abbott, PV., Walsh, LJ. (2022). A critical analysis of research methods and experimental models to study tooth discolouration from endodontic materials *Int Endod J.* 55:370-383

Forghani, M., Gharechahi, M., Karimpour, S. (2016). In vitro evaluation of tooth discolouration induced by mineral trioxide aggregate Fillapex and iRoot SP endodontic sealers. *Aust Endod J.* 42:99-103.

Kohli, MR., Yamaguchi, M., Setzer, FC., Karabucak, B. (2015). Spectrophotometric Analysis of Coronal Tooth Discoloration Induced by Various Bioceramic Cements and Other Endodontic Materials. *J Endod.* 41:1862-6.

Paravina, RD., Pérez, MM., Ghinea, R. (2019). Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. *J Esthet Restor Dent.* 31:103-112.