

**XIII CONGRESO DE
INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA**



LIBRO DE RESÚMENES

CIB2025

12, 13 y 14 de febrero de 2025

**Concurso de Pósters y Comunicaciones
Orales**

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

COMUNICACIONES ORALES

- Desarrollo de estrategias terapéuticas para bloquear el crecimiento de metástasis no angiogénicas basadas en la inhibición de la integrina $\beta 1$. *Irene de la Torre Cea.*
- Estudio del efecto de la radiación ionizante sobre células progenitoras endoteliales de tipo ECFC. *Silvia Gómez Ardanaz.*
- Composición química y estructura microscópica de nuevos materiales biocerámicos de uso endodóntico. *Naiara Castro Alfaro.*
- Efecto de la expresión de miR-200a-3p en el daño tubular renal: una posible diana prometedora para la nefropatía diabética. *Laia Garcia Ferran.*
- Papel de CREB en la angiogénesis tumoral mamaria y su regulación sobre la vía Notch. *Loreto Escacena Izquierdo.*
- Mathematical modelling and genetic engineering of oncolytic viruses for cancer therapy. *Rocío Bagán Navarro.*
- El cilio primario como mecanosensor en la glándula tiroidea. *Beatriz Pérez Fernández.*
- Inhibidores de histona desacetilasa como tratamiento prometedor contra el infarto de miocardio: una revisión sistemática. *Eduardo Sánchez Fernández.*
- Utilidad pronóstica de la cuantificación del calcio coronario detectado incidentalmente en tomografía computarizada torácica. *María Roger Palomares.*
- Magnetic hyperthermia directed to mitochondria as an anticancer strategy. *Rocío Vázquez Martínez.*
- El desafío de reparar la piel envejecida: impacto de la senescencia y el potencial de las vesículas extracelulares en la cicatrización de heridas. *Marta Arnal Forné.*
- Análisis microbiológico del fango de Paiporta post-DANA: determinación de la carga bacteriana y detección de especies patógenas. *Marina Pérez Lara.*
- Identificación de los mecanismos epigenéticos implicados en la resistencia a la terapia dirigida contra EGFR en cáncer de pulmón no microcítico. *Marta Albuixech Benetó.*

POSTERS

- Regulatory T Cells in Peripheral Nerve Repair: insights into their role in regeneration. *Beatriz Gutiérrez-López.*
- Efectos del blanqueamiento a la dentina tratada con hipoclorito de sodio. *María de las Gracias Ruiz Navarro.*
- Efecto de la doble inhibición de la vía de BMP9-ALK1 y el receptor de angiotensina II en la normalización de vasos sanguíneos en modelos de crecimiento tumoral no angiogénico. *Patricia Berlana Galán.*
- La inhibición de la vessel co-option promueve un microambiente tumoral favorable en metástasis experimentales de pulmón. *Laura Marcos Zazo e Iván Carrera Aguado.*
- Utilidad de modelos 3D de Sarcoma de Ewing para analizar la expresión de YAP1/TAZ. *Sara Fushu del Río Ortega.*
- Investigando el mecanismo molecular regulado por Afadina en el control de la proliferación y especificación neural neocortical. *Laura Veintimilla Escot.*
- Study of lung cancer resistance due to chemotherapy induced tumoral microenvironment modifications. Seek of novel migration strategies. *Daniel Cáceres Calle.*
- Study of trained immunity in neutrophils in a mouse modelo f antibody-based hematopoietic progenitor-depletion. *Andrea Guiu Moneo.*
- Effect of rilpivirine on lipid metabolism in the liver and inguinal adipose tissue in a mouse model of steatotic liver disease. *Fernando Solano Guillem.*
- Exploring the complexity of beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease: a study on the spinal cord of mouse models. *Jorge Domínguez Sánchez.*
- Desarrollo de modelos 3D para la búsqueda de marcadores tempranos de fibrosis pulmonar. *Marta Lafarga Nicolau.*
- Terapia con células madre mesenquimales para el tratamiento de la esclerosis múltiple. *Marta Rambla Aguilar.*
- "Apagando genes para encender la vista": revisión bibliográfica metodológica para el knockout del gen RHO en pacientes con retinitis pigmentosa. *Jonathan San José Sánchez.*
- Revisión de la metodología para la secuenciación en la predicción de malformaciones congénitas en fetos. *Ximena Sánchez Alcázar.*
- Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) potential as a modulator of cafeteria diet-induced disruptions of succinic acid metabolism. *Maria Llena Meler.*

- Aplicaciones de CRISPR/Cas9 en enfermedades neurodegenerativas orientadas al tratamiento de Parkinson. *Tania Sales Buj.*
- Dissecting the effects of radiation therapy on clonal hematopoiesis. *Milena Di Carli.*
- Revisión bibliográfica sobre la metodología para el diagnóstico de meningitis bacteriana por PCR múltiple. *Andrés David Berrocal Cepeda.*
- Revisión bibliográfica del uso de CRISPR/Cas9 para el tratamiento de la distrofia muscular asociada al colágeno VI. *Zaira Calero Lagos.*
- Papel del calcio intracelular en la angiogénesis mediada por activación de CREB. *Loreto Escacena Izquierdo.*
- Variaciones en la morfometría del cilio primario según la actividad del folículo tiroideo. *Beatriz Pérez Fernández.*
- Virus de Epstein-Barr y esclerosis múltiple: causalidad y oportunidades terapéuticas. *María Castillo Persiva.*
- Impacto de la depleción de arginina en la infiltración inmune y la eficacia terapéutica en modelos de glioblastoma resecado. *Claudia del Campo Alcoba.*
- Takotsubo cardiomyopathy. *Samira Berdié Alfàs.*
- Alteraciones del "poliaminoma" en el Síndrome Idic15: una enfermedad rara del neurodesarrollo. *Patricia Ferrús Manzano*

Desarrollo de estrategias terapéuticas para bloquear el crecimiento de metástasis no angiogénicas basadas en la inhibición de la integrina $\beta 1$.

Torre-Cea I, Guerra-Paes E, Berlana-Galán P, Cáceres-Calle D, 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

El cáncer se puede abordar desde distintas perspectivas terapéuticas dependiendo de sus características concretas; una de ellas es la vasculatura tumoral, necesaria para que las células oncogénicas crezcan y se determine el microambiente tumoral. Según esto, los tumores se pueden clasificar como angiogénicos, cuando tiene lugar la formación de vasos sanguíneos a partir de otros ya formados, o no angiogénicos cuando se dan procesos que evitan la síntesis vascular. El mecanismo no angiogénico que peor pronóstico presenta y a día de hoy aparece como resistencia a las terapias anti-angiogénicas es la cooptación vascular (VCO). En la VCO las células tumorales secuestran los vasos sanguíneos preexistentes del tejido, puede aparecer de forma intrínseca o adquirida en respuesta a distintos tratamientos, en neoplasias asociadas a órganos altamente vascularizados. Un punto imprescindible en esta estrategia vascular es la adhesión de las células tumorales a la matriz extracelular y a los vasos sanguíneos, utilizando integrinas, que a su vez desencadenan una cascada de señalización celular que aumenta la expresión de las peores características oncogénicas. El objetivo principal de este trabajo es evitar la unión de las integrinas $\beta 1$ a sus ligandos para inhibir la VCO en metástasis pulmonares que presentan esta resistencia y hacerlas más susceptibles a la quimioterapia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevaron a cabo tres experimentos in vivo BALB/c de metástasis con crecimiento no angiogénico a partir de la línea celular 4T1. En ellos se compararon tres tratamientos utilizando inhibidores moleculares de la integrina $\alpha 5\beta 1$: ATN-161, isoDGR y ATN-161 combinado con carboplatino. El estudio se basa en tinciones de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia que nos permiten cuantificar los cambios en el tamaño tumoral, la hipoxia, los vasos sanguíneos y el parénquima pulmonar, las fibras de la matriz extracelular, y los linfocitos T CD8+ anti-tumorales. Finalmente, se analizaron las imágenes tomadas al microscopio óptico y se realizaron análisis estadísticos, t-student y ANOVA.

RESULTADOS

En el primer modelo, el tratamiento único con ATN-161 aumenta el tamaño tumoral debido a que puede estar promoviendo la formación de nuevos vasos sanguíneos aunque se mantienen comprimidos aumentando la hipoxia. No cambia el parénquima pulmonar, las fibras de la matriz extracelular ni la infiltración de linfocitos, pero sí aumenta la cobertura por pericitos de estos vasos sanguíneos.

En el segundo modelo con isoDGR no hay cambios del tamaño aunque sí parece haber nuevos vasos y aumento de hipoxia. Cambia el parénquima pero se mantienen las fibras de la matriz. Aumenta la infiltración de linfocitos T CD8+ y la cobertura por pericitos.

En el tercer modelo con terapia combinada de carboplatino y ATN-161 los resultados son similares al primer modelo pero con una menor formación de nuevos vasos.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los inhibidores de integrinas parecen ser beneficiosos para superar las resistencias terapéuticas que produce la VCO al generar nuevos vasos sanguíneos, lo que podría mejorar la llegada de quimioterapia e inmunoterapia a los tumores. Los resultados son relevantes porque muestran en el microambiente tumoral, clave para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para estos tipos resistentes de cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

Altorki, N. K., Markowitz, G. J., Gao, D., Port, J. L., Saxena, A., Stiles, B., ... Mittal, V. (2019). The lung microenvironment: an important regulator of tumour growth and metastasis. *Nature Reviews. Cancer*, 19(1), 9–31. doi:10.1038/s41568-018-0081-9

Kuczynski, E. A., Vermeulen, P. B., Pezzella, F., Kerbel, R. S., & Reynolds, A. R. (2019). Vessel co-option in cancer. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 16(8), 469–493. doi:10.1038/s41571-019-0181-9

Carrera-Aguado, I., Marcos-Zazo, L., Carrancio-Salán, P., Guerra-Paes, E., Sánchez-Juanes, F., & Muñoz-Félix, J. M. (2024). The inhibition of vessel co-option as an emerging strategy for cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 921. doi:10.3390/ijms25020921

Hamidi, H., & Ivaska, J. (2018). Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis. *Nature Reviews. Cancer*, 18(9), 533–548. doi:10.1038/s41568-018-0038-z

Estudio del efecto de la radiación ionizante sobre células progenitoras endoteliales de tipo ECFC.

Silvia Gómez Ardanaz (1,3), Marta Sánchez Casi (4), Tomás González González (4), Paula Castillo Peña (4), Sergio Lozares Cordero (4), Ángel-Luis García Otín (1,2,3).

(1) Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IISA), Zaragoza. (2) Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza. (3) Unidad de Investigación Traslacional y (4) Servicio de Física y Protección Radiológica, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La radioterapia es una terapia oncológica convencional basada en el empleo de altas dosis de radiación ionizante. Como consecuencia de su aplicación, los tejidos sanos se ven afectados y, entre ellos, el endotelio vascular es especialmente sensible. La radiación en este tejido puede dar lugar a disfunción endotelial y a la aparición de enfermedades cardiovasculares. Por todo esto, resulta importante disponer de modelos de estudio del endotelio para poder desarrollar estrategias que lo protejan de la radiación. Este trabajo explora la posibilidad de utilizar células progenitoras endoteliales de tipo ECFC ("endothelial colony forming cells") como modelo personalizable del endotelio, ya que es posible aislarlas de manera mínimamente invasiva a partir de precursores circulantes en sangre.

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el fin de comprobar su idoneidad como modelo, se sometieron ECFCs a dosis de 2, 4 y 8Gy irradiadas con un acelerador Versa HD de Elekta del servicio de Radiofísica Hospitalaria del Hospital Universitario Miguel Servet y se compararon con un control no tratado a diferentes tiempos de ensayo. En primer lugar, se estudió el efecto que la radiación tenía sobre la viabilidad y crecimiento celular. En segundo lugar, se utilizó citometría de flujo para analizar posibles mecanismos implicados en el daño por la radiación (ciclo celular, senescencia y apoptosis) y en la activación del endotelio (detección de CD54 y CD62E). Por último, se analizó por RT-qPCR la expresión de genes relacionados con funciones endoteliales (NOS3 y VEGFA) y con el desarrollo de la senescencia (CDKN1A y CDKN2A).

RESULTADOS.

Los resultados de la viabilidad y crecimiento celular mostraron una disminución a las 72 horas en las diferentes dosis estudiadas. Los análisis de citometría indicaron que se producía una alteración del ritmo normal del ciclo celular, con arresto en fase G0-G1 para la dosis de 2Gy y en fase G2-M para las dosis de 4 y 8Gy, y un incremento de la senescencia y de la activación endotelial en las células irradiadas. Por último, se observaron cambios en los patrones característicos de expresión génica de genes clave en la función de las células endoteliales y la aparición de un fenotipo senescente que concuerda con el aumento de la senescencia celular.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos en este trabajo se compararon con lo descrito en la literatura sobre el efecto que la radiación ionizante tiene sobre diferentes tipos de células endoteliales, encontrándose que coinciden parcialmente con lo que otros autores han observado. Por tanto, se puede considerar que las células progenitoras endoteliales de tipo ECFC podrían ser útiles para la generación de modelos de estudio de los efectos de la radiación ionizante aplicada en rangos

terapéuticos sobre el endotelio sano. El siguiente paso sería profundizar en la investigación empleando este modelo.

Composición química y estructura microscópica de nuevos materiales biocerámicos de uso endodóntico.

Castro N, Forner L.

Universitat de Valencia

INTRODUCCIÓN

La endodoncia ha evolucionado significativamente, pero aún enfrenta retos para encontrar materiales ideales que garanticen un sellado tridimensional completo de los conductos radiculares. Actualmente, los cementos biocerámicos son una opción destacada por sus propiedades bioactivas y biocompatibles, aunque no cumplen completamente con las características ideales establecidas por Grossman. Este estudio analiza tres cementos biocerámicos: BioRoot RCS (en formato polvo-líquido), AH Plus Bioceramic Sealer y Bio-C Sealer (ambos en formatos premezclados). El objetivo es caracterizar su morfología superficial y composición química para compararlos y comprender mejor sus diferencias y posibles aplicaciones clínicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se prepararon las muestras según las indicaciones de los fabricantes. Para BioRoot RCS, se mezcló polvo con líquido hasta obtener una pasta homogénea. AH Plus Bioceramic Sealer y Bio-C Sealer, al ser premezclados, solo requirieron extracción de material para análisis. Se utilizó microscopía electrónica de barrido (MEB) para analizar la superficie de los materiales y su estructura morfológica. Posteriormente, mediante espectroscopía de rayos X (EDX), se determinó la composición química elemental, analizando elementos clave como oxígeno, carbono, calcio y zirconio, además de rastrear posibles trazas metálicas.

RESULTADOS

La observación microscópica mostró diferencias en la estructura superficial de los materiales. BioRoot RCS presentó una textura porosa similar a una esponja natural, mientras que AH Plus Bioceramic Sealer exhibió una apariencia granulada y relativamente compacta. Por su parte, Bio-C Sealer mostró una superficie irregular semejante a un arrecife de coral. En cuanto a la composición química, el oxígeno y el carbono fueron los elementos principales en los tres cementos. Sin embargo, BioRoot RCS presentó la mayor pureza elemental (99,9%), destacando por su bajo contenido de trazas. AH Plus y Bio-C Sealer, al ser premezclados, incluyeron trazas de metales como aluminio, fósforo y hafnio, presumiblemente añadidos para mejorar la resistencia o la estabilidad. Las cantidades de zirconio y calcio también variaron entre materiales, reflejando diferencias en su formulación química.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los resultados confirman que cada cemento biocerámico presenta características únicas en su morfología y composición química. Los cementos polvo-líquido, como BioRoot RCS, mostraron una mayor pureza, mientras que los premezclados, como AH Plus y Bio-C Sealer, incluyeron aditivos necesarios para su conservación y manejo. Aunque los tres cumplen con muchas de las exigencias clínicas, aún no alcanzan las propiedades ideales para un sellador endodóntico

perfecto. Además, se detectaron discrepancias entre las composiciones declaradas por los fabricantes y los hallazgos del análisis, subrayando la importancia de estudios independientes para garantizar la seguridad y eficacia de estos materiales.

Este análisis comparativo contribuye al entendimiento de cómo seleccionar el material más adecuado para cada situación clínica y a impulsar mejoras en el diseño de cementos biocerámicos.

BIBLIOGRAFÍA

Hargreaves K, Cohen S. Cohen vías de la pulpa. 10a ed. Barcelona: Elsevier; 2011.

Durán-Sindreu FS, Arias AM, Cisneros R, Escribano NI, Forner L, García M, Mena J, Mercadé M, Segura JJ. Manual de Endodoncia. La guía definitiva. 1 ed. Zaragoza: Grupo Asís Biomedica; 2022.

Ahmed HMA, Dummer PMH. Endodontic Advances and Evidence-Based Clinical Guidelines. Chichester: Wiley-Blackwell; 2022.

Efecto de la expresión de miR-200a-3p en el daño tubular renal: una posible diana prometedor para la nefropatía diabética.

García Ferran L.

Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia; Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA

INTRODUCCIÓN

La nefropatía diabética (ND) es una de las principales complicaciones microvasculares de la diabetes mellitus y principal causa de enfermedad renal crónica. Por ello, es clave identificar nuevos biomarcadores diagnósticos y dianas terapéuticas. Existen evidencias sobre el papel del túbulo proximal en la ND que redirigen el interés hacia las células tubulares (RPTEC) (Gui et al., 2023).

Los microRNAs destacan en la fisiopatología de la ND como reguladores de la expresión génica (Gudehithlu et al., 2015). En estudios previos, se ha observado que miR-200a-3p tiene implicaciones en el daño renal y que la expresión de su gen diana, SIRT1, también se ha visto alterada.

El objetivo principal del estudio ha sido evaluar la sobreexpresión e inhibición de miR-200a-3p sobre SIRT1 y los marcadores de daño tubular KIM1 e IL18 en células RPTEC tratadas con altas concentraciones de glucosa (HG) y Angiotensina II (Ang II).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la línea celular epitelial del túbulo proximal condicionalmente inmortalizada (RPTEC/hTERT). Las células se cultivaron a 37 °C en flasks T75, donde fueron tratadas con soluciones de glucosa 30mM durante 48 horas o 1 µM de Angiotensina II durante 24 horas para replicar las condiciones asociadas a la nefropatía. Posteriormente, se realizaron transfecciones para la sobreexpresión o la inhibición del miR-200a-3p.

Los niveles de SIRT1 y de los marcadores de daño tubular KIM1 e IL18 se analizaron a nivel de ARNm mediante técnica RT-qPCR y proteico mediante Western Blot. Los resultados se expresaron como fold-change (FC) y media ± error estándar de la media. La normalidad de las variables se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Según la distribución de los datos, las comparaciones estadísticas se realizaron mediante prueba t de Student o U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

En las células transfectadas con el mimic de miR-200a-3p, se observó una disminución significativa de los niveles de expresión de SIRT1 tanto a nivel de ARNm como proteico (-1.43 FC $p < 0.05$; -1.22 FC $p < 0.05$ respectivamente para HG) y (-1.66 FC $p < 0.05$; -1.64 FC $p < 0.0001$ respectivamente para Ang II). La inhibición del miR-200a-3p provocó un aumento significativo de SIRT1 en los niveles de ARNm y de proteína (1.47 FC, $p < 0.05$; 1.26 FC, $p < 0.01$ respectivamente), y se observó un efecto compensatorio provocado por los tratamientos en las células transfectadas y tratadas.

La expresión de KIM1 e IL18 aumentó en células transfectadas con el mimico de miR-200a-3p y sus niveles disminuyeron con la inhibición del mismo, respecto a las células control no tratadas ni transfectadas o incluso a niveles inferiores, tanto en análisis de ARNm como proteico para ambos tratamientos.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

El estudio ha demostrado como miR-200a-3p regula la expresión de su gen diana y refuerza el conocido efecto renoprotector de SIRT1 bajo condiciones fisiológicas (Huang et al., 2022). Se evaluaron los marcadores KIM1 e IL18, relacionados en estudios previos con la lesión tubular (Lane, 2013). Destaca la relevancia de la inhibición del miR-200a-3p clave para el desarrollo de posibles terapias contra la ND debido a la reducción del daño tubular que provoca.

BIBLIOGRAFÍA

Gudehithlu, K. P., Garcia-Gomez, I., Vernik, J., Brecklin, C., Kraus, M., Cimbaluk, D. J., Hart, P., Dunea, G., Arruda, J. A. L., & Singh, A. K. (2015). In Diabetic Kidney Disease Urinary Exosomes Better Represent Kidney Specific Protein Alterations Than Whole Urine. *American Journal of Nephrology*, 42(6), 418–424. <https://doi.org/10.1159/000443539>

Gui, Y., Palanza, Z., Fu, H., & Zhou, D. (2023). Acute kidney injury in diabetes mellitus: Epidemiology, diagnostic, and therapeutic concepts. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 37(4). <https://doi.org/10.1096/FJ.202201340RR>

Huang, C., Jiang, S., Gao, S., Wang, Y., Cai, X., Fang, J., Yan, T., (Craig) Wan, C., & Cai, Y. (2022). Sirtuins: Research advances on the therapeutic role in acute kidney injury. In *Phytomedicine* (Vol. 101). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154122>

Lane, B. R. (2013). Molecular markers of kidney injury. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 31(5), 682–685. <https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2011.05.007>

Papel de CREB en la angiogénesis tumoral mamaria y su regulación sobre la vía Notch.

Escacena Izquierdo L., Smani Hajami T.

Institución Grupo de Fisiopatología Cardiovascular, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama constituye la principal causa de muerte por cáncer entre las mujeres. En la malignización de los tumores mamarios el "switch angiogénico" constituye un evento fundamental, por el cual el tumor adquiere una vascularización propia. Así, las células endoteliales (CE) son estimuladas por el microambiente neoplásico, y experimentan una proliferación y sprouting que permite la vascularización del tumor. Sin embargo, se desconocen los cambios transcripcionales o funcionales que alteran la biología de la CE en el contexto del cáncer de mama (de Heer et al., 2020). CREB (cAMP response element binding) es un factor de transcripción expresado en la mayoría de tipos celulares cuyo papel mitógeno ha sido demostrado en la CE (Yamamizu et al., 2012). El objetivo principal de este proyecto fue determinar el impacto del microambiente tumoral mamario sobre la señalización de CREB en la CE, y su implicación en el proceso de angiogénesis a través de la regulación de la vía de Notch.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras sanguíneas de una cohorte de 33 pacientes de cáncer de mama del HUVR y un grupo control de 10 mujeres sanas. A partir de estas muestras se extrajo el suero, sobre el que se analizó la concentración de VEGF-A mediante ELISA. La línea de CE HMEC-1, cultivada en medio MCDB131, se sometió a un silenciamiento de la expresión de CREB mediante la transfección de siARNs, tras lo que se analizó la expresión de genes y proteínas implicadas en neovascularización mediante Western Blot y qPCR. Para estudiar la angiogénesis in vitro se empleó el tube formation assay, donde las CE fueron estimuladas con suero de pacientes o control. El análisis estadístico de los datos se realizó con GraphPad mediante las pruebas ANOVA o Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Los resultados del proyecto demuestran, en primer lugar, que el suero de pacientes de cáncer de mama, abundante en factores proangiogénicos como el VEGF-A, es capaz de estimular la angiogénesis in vitro en la línea de CE HMEC-1, en la que la expresión de CREB parece necesaria. Además, se observó que un silenciamiento de CREB lleva a una disminución en componentes de la vía de Notch, de gran relevancia en el proceso de angiogénesis, como Dll-4 (Delta-like 4), NICD1 (Notch Intracelular Cleaved Domain 1) y Hes1, así como un incremento en VEGFR2 (VEGF Receptor 2) y Orai1, proteína implicada en la entrada de Ca²⁺ en la CE.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

En resumen, el conjunto de estos resultados pone de manifiesto la compleja regulación molecular detrás de la vascularización tumoral. Así, las CE sufren una serie de cambios transcripcionales impulsados por el microambiente neoplásico mamario, y en los que CREB parece jugar un papel relevante, regulando la expresión de componentes de la vía de Notch. La comprensión de estos mecanismos puede llevar a la identificación de nuevas dianas terapéuticas que permitan el diseño de fármacos antiangiogénicos de mayor eficacia y seguridad.

BIBLIOGRAFÍA

de Heer, E. C., Jalving, M., & Harris, A. L. (2020). HIFs, angiogenesis, and metabolism: elusive enemies in breast cancer. *The Journal of clinical investigation*, 130(10), 5074–5087. <https://doi.org/10.1172/JCI137552>

Yamamizu, K., Matsunaga, T., Katayama, S., Kataoka, H., Takayama, N., Eto, K., Nishikawa, S., & Yamashita, J. K. (2012). PKA/CREB signaling triggers initiation of endothelial and hematopoietic cell differentiation via Etv2 induction. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 30(4), 687–696. <https://doi.org/10.1002/stem.1041>

Mathematical modelling and genetic engineering of oncolytic viruses for cancer therapy.

Rocío Bagán Navarro, Cristina García Bonillo

Universidad Europea de Valencia

INTRODUCCIÓN

Oncolytic virotherapy represents a revolutionary approach to cancer treatment, utilising genetically engineered viruses to selectively target and destroy tumour cells while stimulating an anti-tumour immune response. Despite promising clinical applications, challenges such as immune clearance, tumour heterogeneity, and treatment optimisation persist. Mathematical modelling has become an essential tool in overcoming these obstacles by predicting viral dynamics, tumour interactions, and immune responses. This study explores the intersection of mathematical modelling and genetic engineering in refining oncolytic virus (OV) therapies, aiming to enhance their efficacy and clinical translation.

MATERIAL Y MÉTODOS

A systematic review was conducted following PRISMA guidelines, focusing on studies that integrate mathematical modelling and genetic engineering in OV therapy. Three primary modelling approaches were analysed: compartmental models, which describe population-level tumour-virus interactions using ordinary differential equations; partial differential equation (PDE) models, which incorporate spatial dynamics to capture virus spread and immune infiltration within the tumour microenvironment; and stochastic models, which account for biological variability and randomness in tumour-virus-immune interactions. Additionally, three clinically relevant oncolytic viruses—Talimogene laherparepvec (T-VEC), ONYX-015, and Cocksackievirus A21 (CVA21)—were examined as case studies to illustrate how predictive modelling can optimise treatment strategies.

RESULTADOS

Mathematical models provide essential insights into the complex interactions between oncolytic viruses, tumour cells, and the immune system, allowing for the refinement of treatment protocols. Compartmental models efficiently describe infection dynamics and viral replication, offering a simplified yet informative framework for therapy optimisation. PDE models enhance predictive accuracy by incorporating spatial factors, enabling the optimisation of viral injection strategies and improving tumour coverage. Stochastic models, by integrating probabilistic elements, better represent patient-specific responses, highlighting the potential for personalised virotherapy. Genetic engineering complements these modelling efforts by improving viral specificity, replication efficiency, and immune modulation, ultimately enhancing treatment efficacy. The integration of modelling and bioengineering has demonstrated improved therapeutic outcomes, particularly in optimising dosing regimens and predicting tumour response across different tumour microenvironments.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

This study highlights the importance of mathematical modelling in optimising oncolytic virotherapy and demonstrates how its integration with genetic engineering can enhance treatment outcomes. Predictive modelling enables a deeper understanding of viral behaviour and immune interactions, guiding the design of more effective and personalised OV therapies. Future

research should focus on hybrid modelling approaches that integrate artificial intelligence and patient-specific data, further refining therapeutic strategies and increasing the clinical applicability of oncolytic virotherapy. The findings of this study reinforce the potential of computationally informed, biologically driven cancer therapies, paving the way for next-generation precision medicine in oncology.

BIBLIOGRAFÍA

Guo, E., & Dobrovolny, H. M. (2023). Mathematical Modeling of Oncolytic Virus Therapy Reveals Role of the Immune Response. *Viruses*, 15(9), 1812.

Malinzi, J., et al. (2017). Modelling the spatiotemporal dynamics of chemovirotherapy cancer treatment. *Journal of Biological Dynamics*, 11(1), 244–274.

Morselli, D., et al. (2023). Agent-Based and Continuum Models for Spatial Dynamics of Infection by Oncolytic Viruses. *Bulletin of mathematical biology*, 85(10), 92.

Ramaj, T., & Zou, X. (2023). On the Treatment of Melanoma: A Mathematical Model of Oncolytic Virotherapy. *Mathematical biosciences*, 109073.

El cilio primario como mecanosensor en la glándula tiroidea.

Pérez-Fernández B., Vázquez-Román V., Fernández-Santos JM., Martín-Lacave I.

Dpto. de Citología e Histología Normal y Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla.

INTRODUCCIÓN

El papel del cilio primario (CP) en el tiroides aún sigue siendo una incógnita. Recientemente, se han propuesto algunas posibles funciones, todas asociadas con la biosíntesis de hormonas tiroideas (HT), ya sea a través de la regulación de la endocitosis de la tiroglobulina (TG) (Lee et al., 2021) , la relación con la autofagia o el procesamiento de la TG mediado por catepsinas (Doğru et al., 2023) . Además, hemos demostrado que cambios en las características del CP sugieren una relación directa entre la ciliogénesis y la actividad folicular, lo que también se observa en distintas situaciones patológicas (Fernández-Santos et al., 2019) . Basándonos en la localización privilegiada del CP en el folículo tiroideo, que parte desde la superficie apical del tirocito y se sumerge en el coloide, así como en el hecho de que experimenta modificaciones dependientes de la densidad del coloide, proponemos que una de sus funciones podría ser la participación en procesos de mecanotransducción detectando el llenado de la luz folicular. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo ha sido examinar la presencia de proteínas mecanosensoras en el CP del tirocito, como ocurre en el riñón y el hígado, donde defectos en el CP inducen el desarrollo de patologías denominadas ciliopatías.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para alcanzar este objetivo, analizamos la expresión de diferentes proteínas relacionadas con la mecanotransducción, como policistina-1 (PC1) y policistina-2 (PC2) por inmunofluorescencia (IF), tanto sobre secciones tiroideas incluidas en parafina como en cultivos de tirocitos humanos normales (Nthy-ori 3-1). Asimismo, realizamos una doble IF para comprobar si estas proteínas colocalizan con el CP. También evaluamos la expresión de PC1 y PC2 en los tirocitos mediante RT-qPCR y Western Blot.

RESULTADOS

En tejido tiroideo humano, hemos demostrado por IF que PC1 y PC2 se expresan en los tirocitos. El patrón de inmunotinción es similar para ambas proteínas y, mediante doble IF, hemos comprobado su colocalización con el CP. Igualmente, hemos identificado estas proteínas en cultivos de tirocitos humanos normales y confirmado por doble IF y microscopía confocal su localización en el CP. Asimismo, hemos corroborado la expresión de PC1 y PC2 en cultivos de Nthy-ori 3-1 a nivel molecular.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Estos resultados apoyan la hipótesis de que el CP desempeña una función mecanosensora en la glándula tiroidea, sin descartar otros posibles papeles de este orgánulo en el tiroides propuestos por otros autores.

Además, se plantea la necesidad de evaluar la relación de la mecanotransducción con la ciliogénesis, para dilucidar si modificaciones en esta función podrían conducir a alteraciones

patológicas del tiroides, como ocurre en las colangiociliopatías o en la enfermedad poliquística renal.

BIBLIOGRAFÍA

Doğru, A. G., Rehders, M., & Brix, K. (2023). Investigations on Primary Cilia of Nthy-ori 3-1 Cells upon Cysteine Cathepsin Inhibition or Thyrotropin Stimulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9292. <https://doi.org/10.3390/ijms24119292>

Fernández-Santos, J. M., Utrilla, J. C., Vázquez-Román, V., Villar-Rodríguez, J. L., Gutiérrez-Avilés, L., & Martín-Lacave, I. (2019). Primary Cilium in the Human Thyrocyte: Changes in Frequency and Length in Relation to the Functional Pathology of the Thyroid Gland. *Thyroid*, 29(4), 595-606. <https://doi.org/10.1089/thy.2018.0401>

Lee, J., Sul, H. J., Kim, K.-H., Chang, J. Y., & Shong, M. (2021). Primary Cilia Mediate TSH-Regulated Thyroglobulin Endocytic Pathways. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 700083. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.700083>

Inhibidores de histona desacetilasa como tratamiento prometedor contra el infarto de miocardio: una revisión sistemática.

Sanchez-Fernandez E, Guerra-Ojeda S, Suarez A, Valls A, C Minuesa N, Gomez-Jimenez V, Serna E y Mauricio MD.

Departament de Fisiologia, UV.

INTRODUCCIÓN

El infarto agudo de miocardio (IAM) es una condición médica crítica que precisa de atención inmediata para minimizar el daño cardíaco y mejorar las tasas de supervivencia. La identificación precoz y el tratamiento inmediato son esenciales para salvar la vida del paciente. Actualmente, la estrategia terapéutica se centra en restaurar el flujo sanguíneo en el miocardio lo más rápido posible. Sin embargo, la reperfusión activa diversas cascadas celulares que contribuyen a la disfunción orgánica, lo que resulta en daño miocárdico por isquemia-reperfusión (I/R). La búsqueda de tratamientos contra el IAM y el daño por I/R es urgente dada la escasez de tratamientos efectivos en la actualidad. A este respecto, los inhibidores de las histonas deacetilasas (iHDAC) están emergiendo como un tratamiento prometedor contra el infarto de miocardio. Nuestro grupo de trabajo realizó una revisión sistemática cuyo objetivo era analizar los efectos de los iHDAC sobre la función ventricular, remodelado cardíaco y tamaño del infarto, entre otros parámetros, centrándose en las vías de señalización que pudieran mediar estos efectos cardiovasculares y proteger contra el IAM.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la revisión se incluyeron estudios experimentales originales examinando los efectos de los iHDAC sobre el IAM, usando las bases de datos PubMed y Scopus. Se excluyeron los artículos no experimentales. Se utilizó la herramienta SYRCLE RoB para evaluar el riesgo de sesgo y los resultados se resumieron en una tabla presentándose en secciones según el tipo de iHDAC usado.

RESULTADOS

Un total de 18 estudios fueron incluidos, 10 de los cuales usaban trichostatin A (TSA) como iHDAC y concluían que el tratamiento mejoraba la función ventricular, reducía el tamaño del infarto e inhibía la hipertrofia miocárdica y el remodelado tras el IAM. Otros iHDAC, como ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), ácido valproico (VPA), mocetinostat, givinostat, entinostat, apicidina y RGFP966, fueron también analizados, mostrando efectos antioxidantes y antiinflamatorios, una mejora de la función cardíaca y el remodelado y una disminución de la apoptosis, entre otros efectos.

CONCLUSIONES

Nuestro trabajo concluye que los iHDAC podrían convertirse en fármacos eficaces en el tratamiento del IAM debido a sus diversos efectos cardioprotectores. Sin embargo, el alto riesgo de sesgo de selección, realización y detección en los estudios in vivo indica que su aplicación en el entorno clínico está aún muy lejos y se necesita más investigación para entender mejor sus beneficios y posibles efectos secundarios.

BIBLIOGRAFÍA

Yellon, D. M., & Hausenloy, D. J. (2007). Myocardial reperfusion injury. *New England Journal of Medicine*, 357(11), 1121-1135.

Pickell, Z., Williams, A. M., Alam, H. B., & Hsu, C. H. (2020). Histone deacetylase inhibitors: a novel strategy for neuroprotection and cardioprotection following ischemia/reperfusion injury. *Journal of the American Heart Association*, 9(11), e016349.

Kong, Y., Tannous, P., Lu, G., Berenji, K., Rothermel, B. A., Olson, E. N., & Hill, J. A. (2006). Suppression of class I and II histone deacetylases blunts pressure-overload cardiac hypertrophy. *Circulation*, 113(22), 2579-2588.

Utilidad pronóstica de la cuantificación del calcio coronario detectado incidentalmente en tomografía computarizada torácica.

María Roger Palomares ^a, Víctor Marcos-Garcés ^{b,c,d}, Silvia Mínguez Díaz de Alda ^b, Héctor Merenciano-González ^{b,c,d}, Carlos Bertolin-Boronat ^c, Manuel Pérez-Pelegrí ^{e,f}, Jose Gavara ^{c,e}, Nerea Perez ^{c,d}, Cesar Rios-Navarro ^{c,d}, Elena De Dios ^d, Juan Sanchis ^{a,b,c,d}, David Moratal ^c, Vicente Bodi ^{a,b,c,d}

^a *Facultat de Medicina i Odontologia, Universitat de València, Valencia, España.*

^b *Servicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia, España.*

^c *Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España.*

^d *Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV), Madrid, España.*

^e *Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular, Universitat Politècnica de València, Valencia, España.*

^f *Lincbiotech S.L, Valencia, España.*

INTRODUCCIÓN

El score de calcio coronario es un marcador útil en la reclasificación del riesgo cardiovascular (Mahabadi et al., 2017; McClelland et al., 2015). No obstante, en caso de detectarse incidentalmente calcificación coronaria en tomografías computarizadas (TC) torácicas realizadas por otros motivos, no se encuentra totalmente establecida la factibilidad de su medición, su valor pronóstico y sus implicaciones en la práctica clínica habitual.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó una cohorte de 176 pacientes a los que se les realizó un TC torácico en 2015 en el Hospital Clínico Universitario de Valencia. Se valoró visualmente la presencia y extensión de calcificación coronaria, y se calculó el score de calcio coronario mediante el método de Agatston utilizando el software LIFEx v7.2.0. Se clasificó la muestra según las categorías del Coronary Artery Calcium Data and Reporting System (CAC-DRS). Se recogieron diferentes variables clínicas y se valoró la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FFRCV), así como el tratamiento preventivo antes y después del TC. Se analizó la asociación de la presencia y extensión de calcificación coronaria con el tiempo transcurrido hasta el primer evento adverso cardiovascular mayor (MACE-3P: muerte cardiovascular, infarto de miocardio no fatal o ictus no fatal). Se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

RESULTADOS

La edad media de la cohorte fue de $61,44 \pm 16,42$ años, siendo un 56,3% varones y un 52,3% fumadores. La media de colesterol total antes del TC fue de $188,78 \pm 44,66$ mg/dl, con un 34,7% de los pacientes recibiendo tratamiento con hipolipemiantes. Mediante el método de Agatston se apreció calcificación coronaria en un 52,3% ($n=92$). El score Agatston promedio en la cohorte fue de $307,03 \pm 725,98$ unidades de Agatston, siendo incluidos 33 pacientes (19%) en la categoría CAC-DRS 1 (calcificación leve), 20 (11%) en la categoría 2 (calcificación moderada) y 39 (22%) en la categoría 3 (calcificación severa). Diecinueve (10,8%) pacientes presentaron MACE-3P a lo largo del seguimiento. Estos pacientes eran más mayores ($71,54 \pm 13,67$ vs. $60,21 \pm 16,33$ años, $p=0,004$), con una mayor prevalencia de FFRCV y de enfermedad renal crónica (21,1% vs. 7%,

p=0,04); y con niveles mayores de glucemia basal (150,83±56,3 mg/dl vs. 102,46±22,72 mg/dl, p= 0,002), pero no de colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad) . El score de calcio coronario se asoció con un mayor riesgo de MACE-3P (HR (Hazard Ratio) 1,04 [1,01-1,08] por 100 unidades de Agatston, p=0,02), así como las categorías CAC-DRS tanto por valoración visual como por método de Agatston, entre otras variables clínicas y de FFRCV.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Se detecta de forma incidental calcificación coronaria en más de la mitad de nuestra población de pacientes sometidos a TC de tórax por diferentes indicaciones. La cuantificación del score de calcio coronario es factible en estos estudios en vida real y proporciona información pronóstica relevante respecto al riesgo cardiovascular a largo plazo(Groen et al., 2024; Shao et al., 2017).

BIBLIOGRAFÍA

Groen, R. A., Jukema, J. W., Van Dijkman, P. R. M., Bax, J. J., Lamb, H. J., Antoni, M. L., & De Graaf, M. A. (2024). The Clear Value of Coronary Artery Calcification Evaluation on Non-Gated Chest Computed Tomography for Cardiac Risk Stratification. *Cardiology and Therapy*, 13(1), 69-87. <https://doi.org/10.1007/s40119-024-00354-9>

Mahabadi, A. A., Möhlenkamp, S., Lehmann, N., Kälisch, H., Dykun, I., Pundt, N., Moebus, S., Jöckel, K.-H., & Erbel, R. (2017). CAC Score Improves Coronary and CV Risk Assessment Above Statin Indication by ESC and AHA/ACC Primary Prevention Guidelines. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 10(2), 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2016.03.022>

McClelland, R. L., Jorgensen, N. W., Budoff, M., Blaha, M. J., Post, W. S., Kronmal, R. A., Bild, D. E., Shea, S., Liu, K., Watson, K. E., Folsom, A. R., Khera, A., Ayers, C., Mahabadi, A.-A., Lehmann, N., Jöckel, K.-H., Moebus, S., Carr, J. J., Erbel, R., & Burke, G. L. (2015). 10-Year Coronary Heart Disease Risk Prediction Using Coronary Artery Calcium and Traditional Risk Factors. *Journal of the American College of Cardiology*, 66(15), 1643-1653. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.08.035>

Shao, L., Yan, A. T., Lebovic, G., Wong, H. H., Kirpalani, A., & Deva, D. P. (2017). Prognostic value of visually detected coronary artery calcification on unenhanced non-gated thoracic computed tomography for prediction of non-fatal myocardial infarction and all-cause mortality. *Journal of Cardiovascular Computed Tomography*, 11(3), 196-202. <https://doi.org/10.1016/j.jcct.2017.03.004>

Magnetic hyperthermia directed to mitochondria as an anticancer strategy.

Vázquez R. 1, 3, Moraru E. 1, Piñol R. 3, Saldaña L. 1, Fernández-Silva F. 1, 2, Millán A. 3, Moreno R. 1, 2

1 Biochemistry and Molecular and Cellular Biology Department, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain; 2 Institute for Biocomputacion and Physics of Complex Systems (BIFI), Zaragoza, Spain; 3 Institute of Nanoscience and Materials of Aragon-INMA, Zaragoza, Spain

INTRODUCCIÓN

Hyperthermia (HT) has emerged as a promising therapy for cancer. Although it has been shown that HT induces death or sensitization of cancer cells to other therapies, the exact mechanism of action remains incompletely understood. Our goal is to characterize it from a mitochondrial perspective, because these organelles play a key role in tumor progression.

In an attempt to improve current hyperthermia-derived treatments, we have been working on a system based on nanoheaters and nanothermometers. The nanoheater consists of iron oxide magnetic nanoparticles that increase temperature in the presence of alternating magnetic fields, a process known as magnetic hyperthermia. These nanoparticles can be functionalized to target specific cells or even organelles. Meanwhile, the nanothermometer, developed by our group, is based on the luminescent emission of lanthanide complex probes that can be internalized into cells. This device enables the monitoring of absolute temperature inside cells allowing the measurement of nanoheaters' local temperature during magnetic HT treatment.

In order to set up the conditions for an efficient use of the hyperthermic approach directed to mitochondria, it is important to determine first their thermal limits and the consequences on structure and function.

MATERIAL Y MÉTODOS

On one hand, we started to optimize the tools to achieve intracellular magnetic hyperthermia treatments. First, the nanoparticles were selected based on their iron oxide content measured through elemental analysis, as well as their hydrodynamic size and zeta potential evaluated by Dynamic Light Scattering. In addition, to increase the specific uptake of the MNPs these were conjugated with Cetuximab, directed to EGFR, via the two-step carbodiimide method. Its presence and orientation were evaluated by gel electrophoresis. Finally, we assessed the uptake and cytotoxicity of the conjugated MNPs through flow cytometry and microscopy.

On the other hand, to better understand the molecular mechanisms of HT and its effects on mitochondria, we used the MDA-MB-468 breast cancer cell model. We evaluated, immediately after heating at different temperatures and after a recovery period at 37°C, the following parameters: cell viability using trypan blue, cell morphology by microscopy, activity and assembly status of the mitochondrial respiratory chain by BN-PAGE followed by WB detection, and gene expression by qPCR and flow cytometry.

RESULTADOS

We have confirmed that, after the two-step carbodiimide method, the MNPs are conjugated with Cetuximab in multiple orientations and that their hydrodynamic size is homogeneous.

Regarding the incorporation, the results show that the nanoparticles are internalized with increased selectivity marked by Cetuximab.

Our initial results also demonstrate that, in the MDA-MB-468 model, hyperthermia leads to a significant temperature and time-dependent reduction in cell viability and affects mitochondrial function and gene expression.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Our results, although preliminary, are quite promising. Traditional hyperthermia has an undeniable effect on cancer cells, and when applied selectively with magnetic hyperthermia, it could help eliminate side effects. For now, it seems feasible to apply magnetic hyperthermia locally and monitor the process using nanothermometers. There is still a lot of work to be done, but the results are heading in the expected direction.

El desafío de reparar la piel envejecida: Impacto de la senescencia y el potencial de las vesículas extracelulares en la cicatrización de heridas.

Arnal-Forné M., Giner-Pérez de Lucía M., Huete-Acevedo J., Mas-Bargues C. Borrás-Blasco C.

Departamento de Fisiología, Universidad de Valencia

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso fisiológico y multifactorial que conlleva la disfunción de los diferentes tejidos y órganos, entre ellos, la piel [1]. El envejecimiento cutáneo afecta significativamente a la cicatrización de heridas, principalmente debido a la disfunción de los fibroblastos senescentes, que reducen su capacidad de proliferación, migración y síntesis de componentes de la matriz extracelular. En este contexto, y siendo la alteración en la comunicación intercelular uno de los "hallmarks" del envejecimiento [2], las vesículas extracelulares (VEs) han emergido como una estrategia terapéutica prometedora para mejorar la regeneración tisular [3,4]. Este estudio evalúa el impacto de la senescencia en la reparación de heridas y el potencial de las VEs para revertir estos efectos en un modelo in vitro de fibroblastos humanos envejecidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se cultivaron in vitro fibroblastos dérmicos humanos jóvenes, a los cuales se indujo senescencia mediante el fármaco palbociclib, inhibidor selectivo de las quinasas dependientes de ciclina 4 y 6 (CDK4/6). Se caracterizó su perfil senescente mediante la expresión de β -galactosidasa asociada a senescencia por citometría de flujo. Para evaluar el impacto de las VEs, se aislaron a partir de células madre derivadas de grasa de ratones jóvenes (ADSCs) y se aplicaron a los cultivos de fibroblastos senescentes. Para llevar a cabo el ensayo de cicatrización in vitro se realizó un raspado con una punta de pipeta estéril sobre la monocapa de células sembradas en las diferentes condiciones (Fibroblastos control, fibroblastos tratados con palbociclib y fibroblastos tratados con palbociclib y VEs). Con el fin de monitorizar la capacidad de migración celular se tomaron fotografías a diferentes horas tras la realización del raspado.

RESULTADOS

Los fibroblastos senescentes mostraron una disminución significativa en su capacidad de proliferación y migración. Sin embargo, el tratamiento con VEs derivadas de ADSCs restauró parcialmente estas funciones.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos sugieren que las VEs poseen un potencial terapéutico para mejorar la cicatrización en la piel envejecida al modular la senescencia de los fibroblastos y restaurar su funcionalidad. Estos resultados destacan la importancia de explorar nuevas estrategias basadas en vesículas extracelulares para el tratamiento de heridas crónicas en poblaciones envejecidas.

BIBLIOGRAFÍA

Arnal-Forné, M., Molina-García, T., Ortega, M., Marcos-Garcés, V., Molina, P., Ferrández-Izquierdo, A., Sepulveda, P., Bodí, V., Ríos-Navarro, C., & Ruiz-Saurí, A. (2024). Changes in human skin composition due to intrinsic aging: a histologic and morphometric study. *Histochemistry and cell biology*, 162(4), 259–271. <https://doi.org/10.1007/s00418-024-02305-w>

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243–278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>

Romero-García, N., Mas-Bargues, C., Huete-Acevedo, J., & Borrás, C. (2023). Extracellular Vesicles and Cellular Ageing. *Sub-cellular biochemistry*, 102, 271–311. https://doi.org/10.1007/978-3-031-21410-3_11

Sanz-Ros, J., Romero-García, N., Mas-Bargues, C., Monleón, D., Gordevicius, J., Brooke, R. T., Dromant, M., Díaz, A., Derevyanko, A., Guío-Carrión, A., Román-Domínguez, A., Inglés, M., Blasco, M. A., Horvath, S., Viña, J., & Borrás, C. (2022). Small extracellular vesicles from young adipose-derived stem cells prevent frailty, improve health span, and decrease epigenetic age in old mice. *Science advances*, 8(42), eabq2226. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abq2226>

Análisis microbiológico del fango de Paiporta post-DANA: determinación de la carga bacteriana y detección de especies patógenas.

Marina Pérez-Lara, Pablo Ibáñez-Payá, Manuel Ruiz-Platón, Héctor Carmona-Salido, Rubén Salvador-Clavell, José Juan Mateo Tolosa, Carmen Amaro González.

Universidad de Valencia

INTRODUCCIÓN

El cambio climático aumenta la frecuencia e intensidad de los eventos de depresión aislada en niveles altos (DANA), destacando el reciente episodio ocurrido el pasado 29 de octubre en Valencia (Thompson et al., 2024). Las inundaciones de diferentes localidades valencianas provocaron la acumulación de grandes cantidades de fango, pudiendo causar un gran impacto en la salud humana (Taylor et al., 2011). La humedad y composición del fango favorece la proliferación de microorganismos presentes en las zonas inundadas o de nuevas especies arrastradas por el agua (Taylor et al., 2011) y que pueden ser potencialmente peligrosas. Por ello, determinamos la presencia de microorganismos presentes en el fango, además de buscar posibles patógenos mediante identificación genética.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un gramo de fango obtenido en Paiporta (Valencia) se resuspendió en PBS 1X y, tras realizar diluciones, se hicieron recuentos en placa utilizando diferentes medios de cultivo (TSA-1% NaCl, Entérico-Hektoen, MacConkey y TCBS). Además, se aplicó un protocolo de enriquecimiento para enterobacterias, repitiendo el procedimiento anterior. A partir de los medios MacConkey y Hektoen se aislaron colonias con morfologías relacionadas a las de especies de mayor relevancia clínica, se extrajo el ADN y se identificaron por secuenciación del 16S ribosómico. La presencia de bacterias patógenas en las muestras del fango y tras el enriquecimiento fue analizada mediante qPCR. Finalmente, se realizó un ensayo de inhibición de los aislados identificados con un consorcio de *Bacillus* BS-25, suspendiendo cada aislado y el consorcio en solución salina e inoculándolos en TSA-1.

RESULTADOS

La determinación de la carga bacteriana tras los recuentos del fango resultó ser mayor en medio TSA-1 en comparación con los otros medios selectivos. Tras los enriquecimientos, aumentó la carga bacteriana en cada medio. Entre los aislados identificados, algunas especies pueden resultar patógenas para el ser humano como *Acinetobacter junii* y *Escherichia fergusonii*. Además *A. junii*, resultó ser uno de los tres aislados inhibidos por el consorcio de *Bacillus*, junto con *Pseudomonas glycinis* y *Pseudomonas knackmussii*. El análisis por qPCR no determinó carga bacteriana suficiente para una detección positiva en el fango, aunque tras el enriquecimiento, se confirmó la presencia de *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Tras la DANA ocurrida en Valencia, el fango acumulado un mes después en las calles presentó una gran biodiversidad de microorganismos, encontrando algunas especies potencialmente patógenas. Sin embargo, estas no parecen estar en cantidad suficiente para causar enfermedad. Por otro lado, los ensayos de inhibición con el consorcio de Bacillus BS-25, revelan un efecto inhibitorio hacia estos posibles patógenos, de tal modo que expectativas futuras sería realizar ensayos más exhaustivos de estas relaciones de inhibición.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha contado con el apoyo de la subvención THINKINAZUL/2021/027 del MCIN (Ministerio de Ciencia e Innovación de España), con financiación de la Unión Europea NextGeneration EU (PRTR-C17.11) y de la Generalitat Valenciana, (GV), España, y de PID2020-120619RB-I00 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y CIAICO/2021/293 financiada por "Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital" (GV). Además, agradecer a la empresa AGROTAN NATURA S.L por permitirnos el empleo de su cepa BS-25.

BIBLIOGRAFÍA

Taylor, J., Lai, K. M., Davies, M., Clifton, D., Ridley, I., & Biddulph, P. (2011). Flood management: Prediction of microbial contamination in large-scale floods in urban environments. *Environment International*, 37(5), 1019-1029. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.03.015>

Thompson, V., Coumou, D., Galfi, V. M., Happé, T., Kew, S., Pinto, I., Philip, S., De Vries, H., & Van Der Wiel, K. (2024). Changing dynamics of Western European summertime cut-off lows: A case study of the July 2021 flood event. *Atmospheric Science Letters*, 25(10), e1260. <https://doi.org/10.1002/asl.1260>

Identificación de los mecanismos epigenéticos implicados en la resistencia a la terapia dirigida contra EGFR en cáncer de pulmón no microcítico.

Albuxech Benetó M, Alemany Cosme E, Sandoval del Amor J.

Instituto de Investigación Sanitaria la Fe

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón (CP) es la principal causa de muerte por cáncer a nivel mundial, con 2,21 millones de muertes anuales. Los avances en investigación han reducido esta tasa, especialmente con terapias dirigidas como los inhibidores de tirosina quinasa (TKIs), que tratan el CP no microcítico (CPNM) con mutaciones en el gen EGFR. Sin embargo, la resistencia a estos tratamientos sigue siendo un reto. Osimertinib (OSI), un TKI de tercera generación, ha mejorado la respuesta terapéutica, pero la resistencia persiste. Este estudio investiga los mecanismos epigenéticos de resistencia para desarrollar biomarcadores predictivos y nuevas estrategias terapéuticas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivos celulares

Se cultivaron líneas celulares de CPNM con mutaciones en EGFR sensibles a OSI (NCI-H1975, HCC-4006 y HCC-827). Para generar líneas resistentes, se expusieron a concentraciones crecientes de OSI (50 nM - 10 μ M) durante seis meses. Se caracterizaron los cambios en marcadores epitelio-mesenquimales mediante qPCR y western blot.

Identificación de genes desregulados

Se realizó RNASeq y array EPIC (Infinium MethylationEPIC BeadChip) para analizar el transcriptoma y el metiloma. Se integraron los datos mediante un modelo de regresión lineal basado en rangos de efectos mixtos, filtrando genes con correlación $\leq -0,7$ entre metilación y expresión, cambios de metilación $\geq 0,2$ y presencia de más de tres CpGs en regiones promotoras. Se seleccionaron 15 genes con relevancia funcional según revisión bibliográfica.

Regulación por metilación

Para evaluar la regulación epigenética, se trataron las células con decitabina (5-Aza-2'-deoxycytidine), inhibidor de la metiltransferasa DNMT1, y se analizó la expresión de los 15 genes mediante qPCR.

Modelo celular

Se empleó CRISPRi para reprimir CLDN7 en las líneas parentales. Se utilizaron tres guías (sg1, sg2 y sg5) dirigidas a regiones promotoras de CLDN7, además de una guía inespecífica como control.

RESULTADOS

Cultivos celulares

Las líneas resistentes a OSI mostraron mayor expresión de genes mesenquimales y menor expresión de genes epiteliales a nivel de transcrito y proteína.

Identificación de genes desregulados

Se identificaron 3.595 genes con metilación diferencial. Tras integración de datos, se seleccionaron 233 genes con correlación $\leq -0,7$, de los cuales 99 presentaban cambios de metilación $\geq 0,2$. Finalmente, se seleccionaron 15 genes relevantes.

Regulación por metilación

El tratamiento con decitabina restauró la expresión de genes reprimidos, destacando CLDN7 y GJB3.

Modelo celular

CRISPRi logró una represión significativa de CLDN7 en todas las líneas celulares, siendo más eficiente en HCC-4006, seguida de NCI-H1975 y HCC-827.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

1. La exposición prolongada a OSI induce resistencia y transición epitelio-mesenquimal.
2. La resistencia a OSI se asocia con desregulación del metiloma.
3. Decitabina revierte la hipermetilación y restaura la expresión de genes clave.
4. CLDN7 podría estar implicado en la resistencia a OSI y la transición epitelio-mesenquimal.
5. CRISPRi permitirá explorar el papel funcional de CLDN7 en la resistencia a OSI.

BIBLIOGRAFÍA

Soria, J. C., Ohe, Y., Vansteenkiste, J., et al. (2018). Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *The New England Journal of Medicine*, 378(2), 113-125. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713137>

Leonetti, A., Sharma, S., Minari, R., Perego, P., Giovannetti, E., & Tiseo, M. (2019). Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer*, 121(9), 725-737. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0573-8>

Lu, Z., Ding, L., Hong, H., Hoggard, J., Lu, Q., & Chen, Y. H. (2011). Claudin-7 inhibits human lung cancer cell migration and invasion through ERK/MAPK signaling pathway. *Experimental Cell Research*, 317(13), 1935-1946. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.05.019>

Akizuki, R., Shimobaba, S., Matsunaga, T., Endo, S., & Ikari, A. (2017). Claudin-5, -7, and -18 suppress proliferation mediated by inhibition of phosphorylation of Akt in human lung squamous cell carcinoma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(2), 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.11.018>

Lu, Z., Kim, D. H., Fan, J., et al. (2015). A non-tight junction function of claudin-7—Interaction with integrin signaling in suppressing lung cancer cell proliferation and detachment. *Molecular Cancer*, 14, 120. <https://doi.org/10.1186/s12943-015-0387-0>

Kudinov, A. E., Deneka, A., Nikonova, A. S., et al. (2016). Musashi-2 (MSI2) supports TGF- β signaling and inhibits claudins to promote non-small cell lung cancer (NSCLC) metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(25), 6955-6960. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513616113>

Walter, K., Holcomb, T., Januario, T., et al. (2012). DNA methylation profiling defines clinically relevant biological subsets of non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 18(8), 2360-2373. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-2635-T>

Li, Y., Gong, Y., Ning, X., et al. (2018). Downregulation of CLDN7 due to promoter hypermethylation is associated with human clear cell renal cell carcinoma progression and poor prognosis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 37(1), 276. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0924-y>

Regulatory T Cells in Peripheral Nerve Repair: insights into their role in regeneration.

Beatriz Gutiérrez-López, Laia Fuster-Fullana, Celia Ferris-Nuñez, Andrea Poveda-Sabuco, Joanna Pico, Lucía García-Ortuño, Ghizlane Ennatiji, Andrea Ibañez-Grau, María Aznar-Mas, Hugo Cabedo, Francisco Marco, Alerie G. De la Fuente and Jose A. Gomez-Sanchez

Institución Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, Spain

INTRODUCCIÓN

Regulatory T cells (Tregs) are pivotal immune modulators with emerging roles in tissue repair and regeneration. Tregs maintain immune tolerance, control inflammation, and exhibit neuroprotective functions, particularly in central nervous system (CNS) injuries. However, their role in peripheral nervous system (PNS) repair remains poorly understood. This study aims to evaluate Treg involvement in Wallerian degeneration, axonal regeneration, and remyelination using a murine sciatic nerve injury model.

MATERIAL Y MÉTODOS

We used 8-week-old male and female mice that underwent a sciatic nerve crush injury. Tregs were quantified at 0, 7, 14, and 21 days post-injury via flow cytometry in the distal stump and systemic tissues (spleen, blood, and lymph nodes). Ultrastructural changes in axonal regeneration and remyelination were assessed using scanning transmission electron microscopy. Endogenous Tregs were expanded through co-injection of recombinant mouse IL-2 and anti-IL-2 monoclonal antibody, with an isotype control as a comparator.

RESULTADOS

Tregs significantly infiltrated the distal stump of the injured nerve, peaking at day 14 post-injury. Despite this marked expansion, ultrastructural analysis showed no measurable improvements in axonal regeneration or remyelination at 14 days. Quantitative assessments of g-ratio values, axon diameters, and myelin thickness revealed no significant differences between Treg-expanded and control groups. No sex-dependent differences were observed in Treg accumulation, myelin clearance, or remyelination outcomes.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

This study demonstrates that Tregs accumulate in the distal nerve post-injury and can be expanded pharmacologically. However, their presence or expansion does not enhance axonal regeneration or remyelination. These findings prompt further investigation into Treg interactions with Schwann cells and other immune cells to understand their role in the molecular environment of peripheral nerve repair. Insights into these mechanisms may identify therapeutic pathways to resolve inflammation and improve nerve regeneration.

BIBLIOGRAFÍA

Kipnis, J. (2016). Multifaceted interactions between adaptive immunity and the central nervous system. *Science*, 353(6301), 766-771.

Cattin, A. L., & Lloyd, A. C. (2016). The Schwann cell response to nerve injury. *Current Opinion in Neurobiology*, 39, 93-99.

Zhou, X., et al. (2022). Regulatory T cells and their therapeutic potential for peripheral nerve injury. *Frontiers in Immunology*, 13, 849127.

Gomez-Sanchez, J. A., et al. (2023). Schwann cell senescence in peripheral nerve repair. *Journal of Neuroinflammation*, 20(1), 25

Efectos del blanqueamiento a la dentina tratada con hipoclorito de sodio.

Ruiz MG., Llena MC

Universitat de València. Facultad de Medicina y Odontología. Dto. Estomatología

INTRODUCCIÓN

Gran parte de la evidencia científica disponible hasta el momento, se encuentra enfocada al análisis de las variaciones morfológicas en el esmalte dental tras un proceso de blanqueamiento, existiendo un número limitado de estudios dirigidos a investigar las variaciones que tanto a nivel estructural, como mineral y orgánico se producen en la dentina y en la unión amelodentinaria, cuando los agentes blanqueadores son aplicados en el interior de la cámara pulpar para el blanqueamiento dental interno.

Los pocos estudios que han evaluado los cambios orgánicos apuntan hacia una degradación de la matriz orgánica de la dentina, formada en gran parte por colágeno de tipo I, que sería dependiente del agente blanqueador utilizado y del tiempo de aplicación (Mayer-Santos y cols.,2022).

Adicionalmente, la cámara pulpar del diente que precisa un blanqueamiento interno ha sido tratada con agentes químicos durante la desinfección y la conformación de la morfología de los conductos radiculares previos a la obturación. El irrigante más utilizado es el hipoclorito de sodio (NaOCL) al 5,25 %, habiéndose hallado una reducción significativa en el colágeno y no significativa en carbonato y fosfato de la dentina radicular tras el tratamiento este producto (Padmakumaret y cols., 2022).

En base a los hallazgos descritos en la literatura se plantea este proyecto de investigación que pretende evaluar los cambios en la morfología, composición mineral y orgánica de la dentina, y en la unión amelodentinaria cuando se utiliza de forma aislada y combinada NaOCL al 5,25 % y PH al 37,5%.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron terceros molares humanos incluidos extraídos por motivos médicos. Se embebieron en resina acrílica obteniéndose secciones de 1 mm de espesor. Cada diente actuó como su propio control. Se establecieron 4 grupos de trabajo (n=3 muestras por grupo), G1: Control, G2: NaOCL 5,25%, G3:PH 37,5% G4: NaOCL 5,25% + PH 37,5%. Mediante dispersión de rayos X (EDX) se midió la composición mineral en dentina y LAD. Utilizando espectrometría infrarroja transformada de Fourier (FTIR) se identificaron los picos de amida I, amida III, fosfato, carbonato e hidroxiapatita en ambas zonas. Los resultados cuantitativos se compararon mediante prueba de Wilcoxon y comparaciones múltiples de Bonferroni, con un nivel de significación $p < 0,05$.

RESULTADOS

Respecto a la composición química evaluada mediante EDX, en la LAD los valores de oxígeno en el grupo NaOCL fueron significativamente inferiores respecto al resto de grupos, mientras que el calcio fue superiores al resto de grupos. En el mismo grupo, el sodio se redujo respecto al control. En dentina los valores de sodio y magnesio fueron superiores en el grupo NaOCL respecto al resto de grupos ($p < 0,05$).

Mediante FTIR se identificaron picos de contenido inorgánico en la totalidad de las muestras y desaparición de picos de amida III en las muestras tratadas.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Coincidiendo con otros estudios, se confirmó la presencia de diferencias en la composición entre la dentina y la LAD. Se evidenciaron modificaciones tanto en la parte orgánica como en la mineral entre los distintos tratamientos y zonas del diente.

BIBLIOGRAFÍA

Barón, M., Morales, V., Fuentes, M. V., Linares, M., Escribano, N., & Ceballos, L. (2020). The influence of irrigation solutions in the inorganic and organic radicular dentine composition. *Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 46(2), 217–225. <https://doi.org/10.1111/aej.12395>

Cakir, F. Y., Korkmaz, Y., Firat, E., Oztas, S. S., & Gurgan, S. (2011). Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. *Operative dentistry*, 36(5), 529–536. <https://doi.org/10.2341/11-050-L>

Mayer-Santos, E., Bachiega-Silva, B., Twiaschor, C. V., Shimokawa, C. A. K., Marinho, G. B., Junior, A. B., Zanin, F., Brugnera, A. P., Ramalho, K. M., & de Freitas, P. M. (2022). Blinded, parallel and randomized clinical evaluation of in-office dental bleaching with violet LED (405-410nm). *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 38, 102739. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.102739>

Padmakumar, I., Hinduja, D., Mujeeb, A., Kachenahalli Narasimhaiah, R., Kumar Saraswathi, A., Mirza, M. B., Robaian, A., Basheer, S. N., Karobari, M. I., & Scardina, G. A. (2022). Evaluation of Effects of Various Irrigating Solutions on Chemical Structure of Root Canal Dentin Using FTIR, SEM, and EDS: An In Vitro Study. *Journal of functional biomaterials*, 13(4), 197. <https://doi.org/10.3390/jfb13040197>

Efecto de la doble inhibición de la vía de BMP9-ALK1 y el receptor de angiotensina II en la normalización de vasos sanguíneos en modelos de crecimiento tumoral no angiogénico.

Patricia Berlana-Galán, Elena Guerra-Paes, Irene de la Torre Cea, Daniel Cáceres-Calle, Laura Marcos-Zazo, Iván Carrera-Aguado, Fernando Sánchez-Juanes, José M. Muñoz-Félix

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Salamanca, España

INTRODUCCIÓN

El proceso de angiogénesis ha sido considerado una potencial diana terapéutica en los tratamientos contra el cáncer. Sin embargo, las terapias antiangiogénicas empleadas hasta el momento han demostrado una eficacia reducida, bien por la resistencia intrínseca, o bien por la resistencia adquirida, desarrollada tras un periodo inicial de respuesta al tratamiento (Bridgeman, 2017). Se cree que esta resistencia puede derivar del mecanismo de cooptación vascular, mediante el cual el tumor utiliza vasos preexistentes para la obtención de oxígeno y nutrientes (Kuczynski, 2020). A raíz de estos hechos, se han considerado estrategias de tratamiento alternativas como la promoción vascular, en la que se plantea la proangiogénesis como un método de control del crecimiento tumoral (Carrera-Aguado, 2024). Este tipo de terapias facilitan la distribución y absorción intracelular de fármacos quimioterápicos, incrementando la densidad vascular, reduciendo la hipoxia y el riesgo de metástasis (Huang, 2015). En este estudio se desarrollarán estrategias de inhibición del crecimiento no angiogénico, regulado por la vía ALK1-BMP9, en un modelo in vivo de metástasis de pulmón. Esta vía de señalización interviene en el equilibrio entre los procesos de proliferación y quiescencia endotelial (Ayuso-Íñigo, 2021). Además, se evaluará la respuesta tumoral al tratamiento combinado del anticuerpo anti-ALK1 ascrinvacumab y el antagonista del receptor de angiotensina II, losartán.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo del modelo in vivo se utilizaron hembras de ratón BALB/c a las que se les inyectó la línea celular de cáncer de mama 4T1 para generar metástasis no angiogénicas en el pulmón, siguiendo un patrón de cooptación vascular. Los ratones fueron tratados con losartán (40 mg/kg) y su combinación con el anticuerpo ascrinvacumab (10 mg/kg). Para el análisis se obtuvieron cortes histológicos de pulmón y se aplicaron distintos protocolos de tinción.

RESULTADOS

El tratamiento con losartán promueve una mayor cobertura vascular de pericitos, así como un aumento no significativo en el crecimiento tumoral y la hipoxia. El tratamiento combinado de ascrinvacumab y losartán promueve una menor deposición de colágeno I y fibronectina respecto al tratamiento individual con losartán. Además, disminuye no significativamente el área, la carga, el número y el tamaño de las metástasis. Se han observado elevados niveles de hipoxia y un incremento en la cobertura de pericitos tras el tratamiento combinado.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Tanto el tratamiento independiente con losartán como el combinado con ascrinvacumab tienen un efecto normalizador de los vasos, aumentando la cobertura de pericitos. A pesar de que la normalización de vasos es beneficiosa para facilitar la distribución de fármacos y reducir la malignidad e invasividad de los tumores, los tratamientos no consiguen reducir los niveles de hipoxia. Los vasos maduros permiten un mejor riego sanguíneo, favoreciendo la progresión de las metástasis. Sin embargo, la combinación con ascrinvacumab resulta favorable, permitiendo reducir este crecimiento tumoral mediante una remodelación de la matriz extracelular a nivel de las fibras de colágeno I y fibronectina.

BIBLIOGRAFÍA

Ayuso-Íñigo, B., Méndez-García, L., Pericacho, M., & Muñoz-Félix, J. M. (2021). The Dual Effect of the BMP9–ALK1 Pathway in Blood Vessels: An Opportunity for Cancer Therapy Improvement?. *Cancers*, 13(21), 5412.

Bridgeman, V. L., Vermeulen, P. B., Foo, S., Bilecz, A., Daley, F., Kostaras, E., ... & Reynolds, A. R. (2017). Vessel co-option is common in human lung metastases and mediates resistance to anti-angiogenic therapy in preclinical lung metastasis models. *The Journal of pathology*, 241(3), 362-374.

Carrera-Aguado, I., Marcos-Zazo, L., Carrancio-Salán, P., Guerra-Paes, E., Sánchez-Juanes, F., & Muñoz-Félix, J. M. (2024). The Inhibition of Vessel Co-Option as an Emerging Strategy for Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 921.

Huang, D., Lan, H., Liu, F., Wang, S., Chen, X., Jin, K., & Mou, X. (2015). Anti-angiogenesis or pro-angiogenesis for cancer treatment: focus on drug distribution. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(6), 8369.

Kuczynski, E. A., & Reynolds, A. R. (2020). Vessel co-option and resistance to anti-angiogenic therapy. *Angiogenesis*, 23(1), 55-74.

La inhibición de la vessel co-option promueve un microambiente tumoral favorable en metástasis experimentales de pulmón.

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

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Salamanca. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

INTRODUCCIÓN

Las células tumorales necesitan oxígeno y nutrientes, que son suministrados por los vasos sanguíneos. El principal mecanismo de vascularización tumoral es la angiogénesis, que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes. Sin embargo, en tejidos altamente vascularizados, como el pulmón, algunos tumores pueden desarrollar un crecimiento no angiogénico. Un ejemplo es la vessel co-option (VCO), en la que las células tumorales aprovechan los vasos sanguíneos preexistentes en el tejido en lugar de producir nuevos. Este tipo de crecimiento actúa como mecanismo de resistencia a la terapia anti-angiogénica y reduce la eficacia de la quimioterapia (Kuczynski & Reynolds, 2020), siendo imprescindible diseñar estrategias para inhibirlo. Una de ellas es la promoción vascular, consistente en incrementar el número y la funcionalidad de los vasos sanguíneos tumorales para aumentar el flujo sanguíneo y favorecer la distribución de terapias antitumorales (Wong et al., 2015). Por ello, proponemos la utilización de bajas dosis de cilengitide (IdCil) (Reynolds et al., 2009), inhibidor de las integrinas $\alpha v \beta 3$ y $\alpha v \beta 5$, para transformar el crecimiento de VCO en un crecimiento angiogénico en metástasis pulmonares. También planteamos utilizar esta estrategia en metástasis pulmonares angiogénicas para aumentar el flujo sanguíneo. En ambos casos, se pretende generar un microambiente tumoral favorable que potencie la eficacia de la quimioterapia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos desarrollado un modelo murino de metástasis pulmonares de VCO y un modelo murino de metástasis angiogénicas mediante la inyección ortotópica de las líneas celulares 4T1 y RENCA, respectivamente (Cuypers et al., 2022). En ambos modelos, administramos IdCil en monoterapia para evaluar su capacidad de estimular promoción vascular y en combinación con quimioterapia para comprobar los efectos del co-tratamiento sobre el crecimiento tumoral. Posteriormente, se extrajeron los pulmones y se procesaron para obtener secciones de tejido sobre las que aplicamos diferentes tinciones: hematoxilina-eosina para analizar el crecimiento tumoral, inmunohistoquímica para determinar los niveles de hipoxia y la infiltración linfocitaria y doble inmunofluorescencia de endomucina-podoplanina o endomucina- α SMA para el estudio de la vasculatura tumoral.

RESULTADOS

Nuestros resultados muestran que el tratamiento con IdCil ejerce un efecto sobre los vasos sanguíneos, aumentando su número en metástasis pulmonares angiogénicas y no angiogénicas. Por otro lado, aumenta la infiltración linfocitaria en ambos modelos y reduce los niveles de hipoxia en metástasis de VCO. Finalmente, el empleo de esta molécula con quimioterapia reduce

el tamaño tumoral en estas últimas, mientras que en tumores angiogénicos favorece su crecimiento al aumentar la carga tumoral y el número de metástasis.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra que el tratamiento con IdCil promueve el crecimiento angiogénico de metástasis pulmonares de VCO y genera un microambiente tumoral favorable que potencia el efecto del carboplatino, reduciendo el tamaño de los tumores. En cambio, la aplicación de IdCil en metástasis pulmonares angiogénicas no genera un microambiente favorable ni favorece el efecto de paclitaxel. Nuestros resultados muestran el potencial clínico de la promoción vascular en tumores de VCO e indican que es perjudicial en angiogénicos. Por ello, resulta fundamental determinar el patrón de crecimiento de manera previa a la aplicación de esta estrategia.

BIBLIOGRAFÍA

Cuypers, A., Teuwen, LA, Bridgeman, VL, de Rooij, LPMH, Eelen, G., Dewerchin, M., Cantelmo, AR, Kalucka, J., Bouché, A., Vinckier, S., Carton, A., Manderveld, A., Vermeulen, PB, Reynolds, AR y Carmeliet, P. (2022). Generación de modelos de ratón con metástasis pulmonares por cooptación de vasos para el aislamiento unicelular de células endoteliales y derivadas de metástasis. *Protocolos STAR*, 3 (4), 101691. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101691>

Kuczynski, EA, & Reynolds, AR (2020). Cooptación vascular y resistencia a la terapia antiangiogénica. *Angiogenesis*, 23 (1), 55–74. <https://doi.org/10.1007/s10456-019-09698-6>

Reynolds, AR, Hart, IR, Watson, AR, Welti, JC, Silva, RG, Robinson, SD, Da Violante, G., Gourlaouen, M., Salih, M., Jones, MC, Jones, DT, Saunders, G., Kostourou, V., Perron-Sierra, F., Norman, JC, Tucker, GC y Hodivala-Dilke, KM (2009). Estimulación del crecimiento tumoral y la angiogénesis mediante bajas concentraciones de inhibidores de la integrina mimética de RGD. *Nature medicine*, 15 (4), 392–400. <https://doi.org/10.1038/nm.1941>

Wong, PP, Demircioglu, F., Ghazaly, E., Alrawashdeh, W., Stratford, MR, Scudamore, CL, Cereser, B., Crnogorac-Jurcevic, T., McDonald, S., Elia, G., Hagemann, T., Kocher, HM y Hodivala-Dilke, KM (2015). La terapia combinada de doble acción mejora la angiogénesis al tiempo que reduce el crecimiento y la propagación del tumor. *Cancer cell*, 27 (1), 123–137. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.10.015>

Utilidad de modelos 3D de Sarcoma de Ewing para analizar la expresión de YAP1/TAZ.

Sara Fushu del Río Ortega

Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia

INTRODUCCIÓN

La vía de señalización Hippo tiene un papel central en el proceso de mecanotransducción y el control de procesos biológicos como la proliferación, diferenciación o migración celular. Sus principales efectores nucleares finales son YAP1/TAZ, cuyo papel es regular la expresión génica dependiendo de señales provenientes de la matriz extracelular. En condiciones homeostáticas, la actividad de YAP1/TAZ se encuentra regulada, pero en contextos tumorales su desregulación y translocación nuclear favorece la proliferación cancerosa y metastásica. Estudios recientes correlacionan la sobreexpresión de YAP1/TAZ en sarcoma de Ewing con un peor pronóstico, destacando su posible potencial como diana terapéutica. Para su investigación, los modelos 3D representan una herramienta que permiten recrear las condiciones del microambiente tumoral in vitro y el estudio de las interacciones entre células y la matriz extracelular. En este estudio se han utilizado hidrogeles 3D compuestos de gelatina con tiramina, fibroína de seda, y la glicoproteína de anclaje vitronectina. Estos modelos se han cultivado durante 21 días con 3 líneas celulares de sarcoma de Ewing. Posteriormente se han aplicado herramientas de patología digital para estudiar la adaptación celular y la expresión de YAP1/TAZ en los cultivos 3D y en monocapa. Los resultados muestran una mayor activación de la vía Hippo en los modelos 3D que en los cultivos tradicionales en dos de las tres líneas celulares de sarcoma de Ewing, manifestando la importancia de utilizar modelos biomiméticos y de considerar la heterogeneidad en la adaptación entre líneas celulares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivos celulares en monocapa (2D)
Citospin (Thermo Fisher Scientific, EEUU)
Cultivos celulares en hidrogeles (3D)
Inmunohistoquímica
Análisis digital microscópico

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

1. Los cultivos 3D utilizados en este trabajo suponen herramientas valiosas para el estudio simplificado de componentes específicos del microambiente tumoral, particularmente del SE.
2. Los resultados de este trabajo destacan la influencia de la rigidez de la MEC y la presencia de VN en la activación de YAP1/TAZ, mediadores clave de la vía Hippo. Particularmente en cultivos 3D, donde la positividad nuclear de YAP1/TAZ fue mayor en comparación con los cultivos tradicionales de las líneas celulares A673 y PDX73.
3. La utilización de la patología digital en el análisis de muestras histológicas y de biomarcadores en cortes y cultivos permite obtener e integrar un mayor número de datos que optimizan el diagnóstico y pronóstico de SE.
4. Los hallazgos respaldan la importancia de YAP1/TAZ como posibles dianas terapéuticas en SE.

BIBLIOGRAFÍA

Dehner, C. A., Lazar, A. J., & Chrisinger, J. S. A. (2024). Updates on WHO classification for small round cell tumors: Ewing sarcoma vs. everything else. In *Human Pathology* (Vol. 147, pp. 101–113). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2024.01.007>

de Álava, E. (2024). Current challenges and practical aspects of molecular pathology for bone and soft tissue tumors. In *Virchows Archiv* (Vol. 484, Issue 2, pp. 353–367). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00428-024-03736-5>

Rothermundt, C., Andreou, D., Blay, J. Y., Brodowicz, T., Desar, I. M. E., Dileo, P., Gelderblom, H., Haas, R., Jakob, J., Jones, R. L., Judson, I., Kunz, W. G., Liegl-Atzwanger, B., Lindner, L. H., Messiou, C., Miah, A. B., Reichardt, P., Szkandera, J., van der Graaf, W. T. A., ... Cerny, T. (2023). Controversies in the management of patients with soft tissue sarcoma: Recommendations of the Conference on State of Science in Sarcoma 2022. *European Journal of Cancer*, 180, 158–179. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.11.008>

Edwin Grier, H., A. Hayes-Dixon, A., J. Marcus, K., H. Meyer, W., A. Meyers, P., A. Olson, T., Louise Seibel, N., & A. Smith, M. (2024, May 3). PDQ Tratamiento del sarcoma de Ewing y los sarcomas indiferenciados de células redondas pequeñas de hueso y tejido blando. Bethesda, MD: National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/hueso/pro/tratamiento-ewing-pdq>

Choi, J. H., & Ro, J. Y. (2023). The Recent Advances in Molecular Diagnosis of Soft Tissue Tumors. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms24065934>

Machado, I., Navarro, S., & Llombart-Bosch, A. (2016). Ewing sarcoma and the new emerging Ewing-like sarcomas: (CIC and BCOR-rearranged-sarcomas). A systematic review. In *Histology and Histopathology* (Vol. 31, Issue 11, pp. 1169–1181). *Histology and Histopathology*. <https://doi.org/10.14670/HH-11-792>

de Álava, E., Noguera, R., Díaz Martín, J., & López Carrasco, A. (2022). Estudio de la matriz extracelular como elemento modulador de la heterogeneidad intratumoral en sarcoma de Ewing.

Alba, L., Arenas, S., & Barrios De Zurbarán, C. (2002). La matriz extracelular: El ecosistema de la célula. *Salud Uninorte*. Barranquilla, 16, 9.

Marín, J. V., Ramón, J., & Morales, M. (2018). Análisis de la función de miembros de la familia Yap durante la gastrulación de teleósteos.

López-Carrasco, A., Parra-Haro, K., Vieco-Martí, I., Granados-Aparici, S., Diaz-Mar-4 Tin, J., Salguero-Aranda, C., Acevedo-León, D., de Álava, E., Navarro, S., & No-5 Guera, R. (2024). Article Characterization of vitronectin effect in 3D Ewing sarcoma models: a digital microscopic analysis of two cell lines 3. *Cancers*, 16. <https://doi.org/10.3390/xxxxx>

Pocaterra, A., Romani, P., & Dupont, S. (2020). YAP/TAZ functions and their regulation at a glance. *Journal of Cell Science*, 133(2). <https://doi.org/10.1242/jcs.230425>

Rodríguez-Núñez, P., Romero-Pérez, L., Amaral, A. T., Puerto-Camacho, P., Jordán, C., Marcilla, D., Grünewald, T. G. P., Alonso, J., de Alava, E., & Díaz- Martín, J. (2020). Hippo pathway effectors YAP1/TAZ induce an EWS–FLI1- opposing gene signature and associate with disease progression in Ewing sarcoma. *Journal of Pathology*, 250(4), 374–386.

<https://doi.org/10.1002/path.5379>

Wei, Y., Hui, V. L. Z., Chen, Y., Han, R., Han, X., & Guo, Y. (2023). YAP/TAZ: Molecular pathway and disease therapy. In *MedComm* (Vol. 4, Issue 4). John Wiley and Sons Inc.

<https://doi.org/10.1002/mco2.340>

Salguero-Aranda, C., Olmedo-Pelayo, J., de Álava, E., Amaral, A. T., & Díaz- Martín, J. (2022). Genetic Alterations and Deregulation of Hippo Pathway as a Pathogenetic Mechanism in Bone and Soft Tissue Sarcoma. In *Cancers* (Vol. 14, Issue 24). MDPI.

<https://doi.org/10.3390/cancers14246211>

Lu, H., Tong, Z., Peng, L., Wang, Z., Yin, S. F., Kambe, N., & Qiu, R. (2022). Recent Advances in the Use of Dimethyl Sulfoxide as a Synthone in Organic Chemistry. *Topics in Current Chemistry* (Cham), 380(6). <https://doi.org/10.1007/S41061-022-00411-8>

Kyriakopoulou, K., Koutsakis, C., Piperigkou, Z., & Karamanos, N. K. (2023). Recreating the extracellular matrix: novel 3D cell culture platforms in cancer research. *FEBS Journal*, 290(22), 5238–5247. <https://doi.org/10.1111/febs.16778>

Wang, H., Xu, T., & Yin, D. (2023). Emerging trends in the methodology of environmental toxicology: 3D cell culture and its applications. In *Science of the Total Environment* (Vol. 857). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159501>

Salvi, M., Acharya, U. R., Molinari, F., & Meiburger, K. M. (2021). The impact of pre-and post-image processing techniques on deep learning frameworks: A comprehensive review for digital pathology image analysis. In *Computers in Biology and Medicine* (Vol. 128). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2020.104129>

Bierbaumer, L., Katschnig, A. M., Radic-Sarikas, B., Kauer, M. O., Petro, J. A., Högl, S., Gurnhofer, E., Pedot, G., Schäfer, B. W., Schwentner, R., Mühlbacher, K., Kromp, F., Aryee, D. N. T., Kenner, L., Uren, A., & Kovar, H. (2021). YAP/TAZ inhibition reduces metastatic potential of Ewing sarcoma cells. *Oncogenesis*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41389-020-00294-8>

Kovar, H., Bierbaumer, L., & Radic-Sarikas, B. (2020). The YAP/TAZ pathway in osteogenesis and bone sarcoma pathogenesis. In *Cells* (Vol. 9, Issue 4). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/cells9040972>

Isfort, I., Elges, S., Cyra, M., Berthold, R., Renner, M., Mechttersheimer, G., Åman, P., Larsson, O., Ratner, N., Hafner, S., Simmet, T., Schliemann, C., Rossig, C., Dirksen, U., Grünewald, I., Wardelmann, E., Huss, S., Hartmann, W., & Trautmann, M. (2019). Prevalence of the Hippo Effectors YAP1/TAZ in Tumors of Soft Tissue and Bone. *Scientific Reports*, 9(1).

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-56247-8>

Xu, R., Chen, R., Tu, C., Gong, X., Liu, Z., Mei, L., Ren, X., & Li, Z. (2024). 3D Models of Sarcomas: The Next-generation Tool for Personalized Medicine. In *Phenomics* (Vol. 4, Issue 2, pp. 171–186). Springer. <https://doi.org/10.1007/s43657-023-00111-3>

Munoz-Garcia, J., Jubelin, C., Loussouarn, A., Goumard, M., Griscom, L., Renodon-Cornière, A., Heymann, M. F., & Heymann, D. (2021). In vitro three-dimensional cell cultures for bone sarcomas. In *Journal of Bone Oncology* (Vol. 30). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2021.100379>

Jafarina, H., Khalilimeybodi, A., Barrasa-Fano, J., Fraley, S. I., Rangamani, P., & Carlier, A. (2024). Insights gained from computational modeling of YAP/TAZ signaling for cellular mechanotransduction. In *npj Systems Biology and Applications* (Vol. 10, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41540-024-00414-9>

Cai, X., Wang, K. C., & Meng, Z. (2021). Mechanoregulation of YAP and TAZ in Cellular Homeostasis and Disease Progression. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.673599>

Investigando el mecanismo molecular regulado por Afadina en el control de la proliferación y especificación neural neocortical.

Veintimilla-Escot L, Marín-Garnes A, Fabra-Beser J, Gil-Sanz C.

Instituto Universitario de Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Departamento de Biología Celular, Universidad de Valencia

INTRODUCCIÓN

La neocorteza es la estructura cerebral crítica para la ejecución de las funciones cognitivas superiores en mamíferos, como las propias del ser humano. La función cerebral adecuada y la integridad funcional de la neocorteza dependen de la generación y organización de un número correcto de neuronas excitatorias e inhibitorias, además de otras células reguladoras. Para que esto ocurra es clave un correcto equilibrio entre la proliferación y diferenciación de las células madre que dan lugar a esta diversidad celular, conocidas como células de glía radial (RGCs). La Afadina, una proteína asociada a las uniones adherentes (AJs) presentes entre las RGCs, desempeña un papel fundamental en este proceso. En este trabajo se investiga el papel de esta proteína en la regulación de las RGCs durante el desarrollo cortical.

MATERIAL Y MÉTODOS

Utilizando ratones mutantes condicionales para Afadina a edad embrionaria 13.5 (E13.5) y sus respectivos controles, se analizaron cambios en la expresión génica mediante PCR cuantitativa y secuenciación de RNA, así como mediante técnicas histológicas. Se seleccionando genes relevantes expresados en las RGCs, destacando los genes de las vías de señalización de Shh y Notch, dos vías importantes implicadas en el control del desarrollo cortical.

RESULTADOS

Tras el análisis de las muestras de los ratones mutantes condicionales para Afadina se observa un cambio significativo en algunos genes de la vía de Shh (Gli1, Sufu) y Notch (Ccmd1, Sox9, Fabp7) en comparación a los controles. Genes fuera de estas vías, como Cyr61 y Fgfbp3, también aparecen desregulados.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que la eliminación de Afadina altera significativamente las rutas de señalización de Shh y Notch, destacando la sobreexpresión de Gli1, y produce cambios en la expresión de otros genes fuera de estas rutas como Cyr61, también implicados en el desarrollo cortical. Estos hallazgos esclarecen ciertos aspectos acerca de los mecanismos moleculares mediados por Afadina subyacentes a la regulación de la proliferación y especificación neural neocortical y abre las puertas a futuras investigaciones sobre dichos mecanismos moleculares.

BIBLIOGRAFÍA

Dahmane, N., Sánchez, P., Gitton, Y., Palma, V., Sun, T., Beyna, M., Weiner, H., & Altaba, A. R. I. (2001). The Sonic Hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis. *Development*, 128(24), 5201-5212. <https://doi.org/10.1242/dev.128.24.5201>

Gaiano, N., Nye, J. S., & Fishell, G. (2000). Radial Glial Identity Is Promoted by Notch1 Signaling in the Murine Forebrain. *Neuron*, 26(2), 395-404. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81172-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81172-1)

Gil-Sanz, C., Landeira, B., Ramos, C., Costa, M. R., & Muller, U. (2014). Proliferative Defects and Formation of a Double Cortex in Mice Lacking *Mltt4* and *Cdh2* in the Dorsal Telencephalon. *Journal Of Neuroscience*, 34(32), 10475-10487. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1793-14.2014>

Study of lung cancer resistance due to chemotherapy induced tumoral microenvironment modifications. Seek of novel migration strategies.

Daniel Cáceres Calle

Universidad de Salamanca

INTRODUCCIÓN

Lung cancer is one of the main health problems worldwide, being non-small cells lung cancer (NSCLC) one of the most deadly and prevalent among all types. Among the reasons of this poor prognosis is the misunderstanding of extracellular matrix (ECM) and tumor microenvironment (TME) as key actors that play a crucial role in tumor development and growth. $\beta 1$ integrin constitute one of the main ECM-cell binding protein, triggers signalling pathways related with cell survival and allows tumor cells to move through ECM, so its inhibition might be beneficial for cancer treatment. The understanding of interactions between these two features and mechanisms that rule these interactions may allow us to develop novel therapies and shed some light over this cancer type.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cell culture: mouse lung tumor KPB6 cell line was used to conduct in vivo experiments.

Orthotopic mouse lung cancer model: The process for developing the orthotopic model involves injecting tumour cells (KPB6) into the bloodstream of mice, C57BL/6 mice,

In vivo treatment: Animals bearing KPB6 tumors were treated with sub-toxic doses of chemotherapies such as Cis (5 mg/Kg), a combination of Ptax-Carbo (10 mg/Kg), and a combination of Oxa-Cyc (10 mg/Kg / 5 mg/Kg). In addition, the $\alpha 5\beta 1$ integrin inhibitor, ATN-161 (100 μ g/Kg), was used in order to adress the effect of $\beta 1$ integrin inhibition.

Histological analysis: Different histological analysis were performed by using immunofluorescence and immunostaining techniques, as well as more classical tissue staining techniques such as Hematoxylin and Eosin staining (H&E).

Statistical analysis: Statistical analysis was performed using GraphPad Prism, with Student's t-test, Mann-Whitney test, and Kruskal-Wallis test.

RESULTADOS

Conducted analysis showed that KPB6 tumors are chemoresistant (sub-toxic doses). However, these different chemotherapy treatments revealed significant ECM changes. Cisplatin increased fibronectin (FN) and CD8 infiltration, associated with better prognosis, but also raised CD206 cells, M2 macrophages, which are linked to poor prognosis. Ptax-Carbo showed potential in ECM remodeling, reducing FN and increasing collagen deposition. However, these ECM changes didn't correlate with tumor size or hypoxia modulation, suggesting ECM remodeling alone may not be sufficient for clinical efficacy. Combining $\beta 1$ inhibitor ATN-161 with Ptax-Carbo chemotherapy showed a tendency towards tumor size reduction and increased CD8 infiltration, linked to better prognosis. However, it also increased hypoxic areas and angiogenic vessels. The

combination enhanced anti-proliferative effects and altered ECM protein levels, promoting CAFs that remodel the ECM.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Understanding ECM remodelling and its impact on the TME are critical for developing effective NSCLC treatments. β 1 integrin inhibition, particularly with ATN-161, shows promise in modifying the TME to enhance chemotherapy efficacy. FN's role in cancer progression remains complex, with its deposition influencing both early tumor progression and prognosis depending on the context. In addition, the inhibition of β 1 integrin showed therapeutic effects. Combining ATN-161 with chemotherapies like carboplatin-paclitaxel or cisplatin induces significant ECM changes, impacting tumor size and treatment response. These findings highlight the potential of targeting ECM and integrin interactions to improve NSCLC treatment outcomes, warranting further research into ECM-modifying therapies.

BIBLIOGRAFÍA

Kuczynski EA, Vermeulen PB, Pezzella F, Kerbel RS, Reynolds AR. Vessel co-option in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2019;16(8):469–93.

Carbonell WS, Delay M, Jahangiri A, Park CC, Aghi MK. B1 Integrin Targeting Potentiates Antiangiogenic Therapy and Inhibits the Growth of Bevacizumab-Resistant Glioblastoma. *Cancer Res*. 2013;73(10):3145–54.

Sardari Nia P, Hendriks J, Friedel G, Van Schil P, Van Marck E. Distinct angiogenic and non-angiogenic growth patterns of lung metastases from renal cell carcinoma. *Histopathology*. 2007 Sep;51(3):354–61.

Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 2011;473(7347):298–307.

Study of trained immunity in neutrophils in a mouse modelo f antibody-based hematopoietic progenitor-depletion.

Andrea Guiu, María Sobén, Paula Guerrero, M.Luisa Gil and Alberto Yañez

Universitat de València

INTRODUCCIÓN

The immunological memory of the innate immune system is called “innate immune memory”. Neutrophils are classical innate phagocytic cells required for protection against pathogens. Historically, neutrophils have been overlooked in the study of innate immune memory due to their short lifespan; nonetheless, the discovery of innate memory in hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs) has brought the significant role of neutrophils back to this field¹. Survival of HSPCs is promoted by the binding of stem cell factor (SCF) to its receptor c-Kit, which is also used as a surface marker for HSPC identification. The monoclonal antibody anti-c-Kit (clone ACK2), which specifically blocks c-Kit binding to SCF, depletes HSPCs enhancing the engraftment of a subsequent HSPCs-transplant and without the side effects of the classical immunosuppressive procedures².

MATERIAL Y MÉTODOS

ACK2 cell line hybridoma was cultured and anti-c-Kit (clone ACK2) monoclonal antibody was isolated, concentrated and purified from the cell line supernatant in an IgG affinity column. Total protein was quantified in a Nanodrop2000, an electrophoresis was made to ensure ACK2 antibody pureness and *in vitro* functionality was tested by a competitive flow cytometry assay. Purified ACK2 antibody was administered *i.p.* at a dose of 500 µg in 250 µL PBS/mouse. To study the kinetics of antibody clearance *in vivo*, peripheral blood was isolated from the maxillary vein and for HSPC depletion, bone marrow (BM) cells from femurs and tibias and measured by flow cytometry.

HSPC were purified from the bone marrow (BM) of DsRed femurs and tibias by immunomagnetic cell sorting as lineage negative cells and transplanted (2.5×10^6 cells/0.1mL PBS *i.v.*) into C5BL/6 recipients and let to *in vivo* differentiate for 6 days.

Candida albicans was used as a systemic infection model: the low-virulence non-germinative strain PCA2 or virulent strain ATCC 26555. PCA2 1.5×10^6 yeasts were used for *i.v.* primary infections in donor DsRed mice. For the measurement of neutrophil recruitment to the peritoneal cavity 1×10^7 ATCC were *i.p.* injected into C5BL/6 receptor mice and peritoneal cells were extracted by peritoneal lavage. For cytokine production, neutrophils were purified from BM and spleen as Ly6G⁺ cells by immunomagnetic cell sorting and intracellular cytokine production of TNFα was measured by flow cytometry after 4h of LPS *in vitro* stimulation.

RESULTADOS / CONCLUSIONES

1. The method we have established in this work for production and purification of anti-c-Kit (clone ACK2) monoclonal antibody is appropriate for achieving a final high-purity stock of functional antibody in optimal conditions for mice *in vivo* administration.

2. Intraperitoneal injection of 500 µg anti-c-Kit (clone ACK2) monoclonal antibody four days before transplantation is an efficient method for depleting HSPCs in the bone marrow to enhance the engraftment of new donor HSPCs.

3. Neutrophils derived from transplanted HSPCs previously exposed to *C. albicans in vivo*, show an improved recruitment to the peritoneal cavity during subsequent *in vivo C. albicans* infection, although do not present an enhanced intracellular pro-inflammatory cytokine production upon a secondary LPS *in vitro* stimulation.

BIBLIOGRAFÍA

Kalafati L, Hatzioannou A, Hajishengallis G, Chavakis T. The role of neutrophils in trained immunity. *Immunol Rev.* 2023 Mar;314(1):142-157.

Czechowicz A, Kraft D, Weissman IL, Bhattacharya D. Efficient transplantation via antibody-based clearance of hematopoietic stem cell niches. *Science.* 2007 Nov 23;318(5854):1296-9.

Effect of rilpivirine on lipid metabolism in the liver and inguinal adipose tissue in a mouse model of steatotic liver disease.

Fernando Solano Guillem

Universitat de Barcelona

INTRODUCCIÓN

Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is the most prevalent form of chronic liver disease. Despite its high prevalence, there is no established treatment for this disease so finding new drugs to treat this disease or repurposing already approved drugs is needed to have different alternatives to treat MASLD. Rilpivirine (RPV) is an anti-HIV drug that has shown an antisteatotic effect. The specific mechanisms by which RPV exerts this action in the liver remain unknown. White adipose tissue (WAT) dysfunction is also linked to the progression of MASLD and can lead to the ectopic accumulation of fat in the liver.

As this dysfunction can be produced by a reduction in WAT expandability, our objectives were to identify the mechanism by which RPV exerts its antisteatotic effect in the liver and the inguinal WAT focusing on lipid metabolism and senescence.

MATERIAL Y MÉTODOS

A high-fat diet mouse model and an *in vitro* model using the 3T3-L1 pre-adipocyte murine cell line were used to assess the effects of RPV in the tissues of interest. To analyse different markers related to lipid metabolism, RT qPCR and Western Blot were performed. In addition, a lipidomic analysis was performed to analyse the lipid profile in the liver of our mouse model.

RESULTADOS / DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

RPV produced a decrease in the *de novo* lipogenesis and in the total triacylglycerols in the liver which could explain its antisteatotic effect. Moreover, in the inguinal adipose tissue, RPV produced several changes in genes related to different processes like some adipokines or transcription factors related to adipogenesis. Regarding senescence, RPV did not produce significant changes in genes related to this process. The results in the *in vitro* tests were similar to those *in vivo*.

Therefore, we conclude that RPV could act by reducing the *de novo* lipogenesis in the liver in a mouse model of steatotic liver disease, and the adipogenesis but it did not produce any changes in the senescence in the WAT.

BIBLIOGRAFÍA

Kokkorakis M, Muzurović E, Volčanšek Š, Chakhtoura M, Hill MA, Mikhailidis DP, et al. Steatotic Liver Disease: Pathophysiology and Emerging Pharmacotherapies. *Pharmacol Rev.* 2024 May 1;76(3):454–99.

Martí-Rodrigo A, Alegre F, Moragrega ÁB, García-García F, Martí-Rodrigo P, Fernández-Iglesias A, et al. Rilpivirine attenuates liver fibrosis through selective STAT1-mediated apoptosis in hepatic stellate cells. *Gut.* 2020 May 1;69(5):920–32.

Curran A, Rull A, Navarro J, Vidal-González J, Martin-Castillo M, Burgos J, et al. Lipidomics Reveals Reduced Inflammatory Lipid Species and Storage Lipids after Switching from EFV/FTC/TDF to RPV/FTC/TDF: A Randomized Open-Label Trial. *J Clin Med*. 2020 May 1;9(5).

Badmus OO, Hillhouse SA, Anderson CD, Hinds TD, Stec DE. Molecular mechanisms of metabolic associated fatty liver disease (MAFLD): functional analysis of lipid metabolism pathways. *Clin Sci (Lond)*. 2022 Sep 1;136(18):1347–66.

Aller R, De Luis DA, Fernandez L, Calle F, Velayos B, Olcoz JL, et al. Influence of insulin resistance and adipokines in the grade of steatosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2008 Apr;53(4):1088–92.

Exploring the complexity of beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease: a study on the spinal cord of mouse models.

Domínguez J, Rosenthal A, Skoryk V, Klementieva O.

Biomedical Center, Lund University

INTRODUCCIÓN

Alzheimer's disease (AD) presents a formidable challenge in healthcare, marked by its devastating impact on cognitive function and daily life activities. It stands as the primary cause of dementia, representing a significant portion of dementia cases globally. The inexorable progression of this neurodegenerative disorder is commonly attributed to the production and accumulation of the beta amyloid peptide (A β) and tau-containing neurofibrillary tangles (NFTs). AD not only affects the brain but also shows high progression of beta amyloid proteins in the spinal cord, responsible for many clinical symptoms. Nanotomography and immunolabelling as a multimodal imaging approach have been shown to be powerful ways to study and understand better the conformation of the aggregates. However, studying A β plaques presents challenges due to their irregular morphology, hidden epitopes that complicate antibody tracking, and the limited resolution of immunofluorescence, requiring complementary techniques like nanotomography for a more comprehensive analysis. This study aims to contribute to a deeper understanding of the molecular mechanisms underlying the disease by analyzing the 3D structure of A β plaques and their disposition, morphology, and structure in the spinal cord.

MATERIAL Y MÉTODOS

To achieve this goal, 12-month 5xFAD spinal cord samples (4 μ m) were processed and stained by immunofluorescence (IF) with five primary antibodies. These slices were stacked by ImageJ, rendering a 3D structure that was compared and aligned with a 3D nanotomography reconstruction of the same spinal cord section using Dragonfly software, allowing for detailed analysis and study of different plaque features.

RESULTADOS

Severe limitations exist in the study of beta-amyloid plaques in AD, such as the intricacy of their epitopes, their complex morphology and arrangement, and the limited information that immunolabelling techniques provide us. However, this study revealed the real 3D structure of A β plaques and explored their conformation, morphology and disposition in the spinal cord of 5xFAD mouse model. By employing a multimodal imaging approach, we obtained a more comprehensive view of the plaque's characteristics and distribution.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

The complexity surrounding A β plaques in the development of AD presents a significant challenge in deciphering their arrangement and morphology in the brain and spinal cord. However, our findings suggest that a multimodal imaging approach combining immunolabelling with nanotomography is a promising alternative for future research. This study contributes valuable insights into the fibrillation and structures composing the plaques in the spinal cord of

5xFAD mouse models, highlighting the need for further exploration to enhance our understanding of AD pathology.

BIBLIOGRAFÍA

Murphy, M. P., & LeVine, H. (2010). Alzheimer's disease and the β -amyloid peptide. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19(1), 311. [https://doi.org/\[DOI\]](https://doi.org/[DOI])

Lesné, S. E., et al. (2013). Brain amyloid- β oligomers in ageing and Alzheimer's disease. *Brain*, 136(5), 1383–1398. [https://doi.org/\[DOI\]](https://doi.org/[DOI])

Kavkova, M., et al. (2021). Contrast-enhanced X-ray computed tomography imaging of amyloid plaques in an Alzheimer disease rat model on a lab-based micro-CT system. *Scientific Reports*, 11, 5999. [https://doi.org/\[DOI\]](https://doi.org/[DOI])

Querol-Vilaseca, M., et al. (2019). Nanoscale structure of amyloid- β plaques in Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 9, 5181. [https://doi.org/\[DOI\]](https://doi.org/[DOI])

Desarrollo de modelos 3D para la búsqueda de marcadores tempranos de fibrosis pulmonar.

Marta Lafarga Nicolau

Universitat de València

INTRODUCCIÓN

La fibrosis pulmonar es una patología caracterizada por la pérdida de homeostasis del tejido y una acumulación excesiva de matriz extracelular, lo que lleva al deterioro progresivo del tejido pulmonar. Para estudiar *in vitro* esta patología es importante replicar el microambiente pulmonar patológico. Los cultivos en 3 dimensiones han surgido como una solución para recrear mejor el ambiente pulmonar y por tanto estudiar la fibrosis de forma más precisa. Por todo ello, es importante optimizar el proceso de formación de estos modelos 3D para poder desarrollar nuevas terapias y encontrar biomarcadores predictivos de la misma.

El objetivo principal de este trabajo es la optimización de modelos 3D para el estudio de la fibrosis pulmonar. Para lograr este objetivo, se fijan como objetivos secundarios la optimización de marcadores de células epiteliales y mesenquimales, la optimización de la técnica utilizada para desarrollar los modelos 3D y finalmente la validación funcional del modelo 3D.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó la expresión de diferentes marcadores de células epiteliales y mesenquimales mediante inmunofluorescencia, RT qPCR y Western Blot. Así mismo, se optimizó la técnica para el desarrollo de los modelos 3D, se estudió la expresión de marcadores epiteliales y mesenquimales en los esferoides mediante inmunofluorescencia y finalmente, se validaron estos esferoides como modelo fibrótico induciendo la fibrosis con TGF β en presencia/ausencia de nintedanib para estudiar marcadores de fibrosis por RT qPCR.

RESULTADOS / DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Una vez realizados todos los experimentos se puede concluir que, el mejor método de formación de esferoides es mediante la siembra en placa de baja adherencia. Los marcadores utilizados para diferenciar células epiteliales de células mesenquimales son el Epcam (para células epiteliales) y la fibronectina (para células mesenquimales). Se ha creado con éxito un modelo 3D para el estudio de la fibrosis pulmonar con 1000 células totales y una proporción 1:20 (una parte de fibroblastos y 19 de células alveolares). El modelo queda validado funcionalmente ya que se ha demostrado por RT qPCR que al tratar al modelo con TGF β se induce fibrosis y tras el tratamiento posterior con TGF β en presencia de nintedanib disminuye la fibrosis.

BIBLIOGRAFÍA

Dinh,P.U.C.,Cores,J.,Hensley,M.T.,Vandergriff,A.C.,Tang,J.,Allen,T.A.,Caranasos,T.G.,Adler,K.B.,Lobo,L.J.,&Cheng,K.(2017).Derivation of therapeutic lung spheroid cells from minimally invasive transbronchial pulmonary biopsies. *Respiratory Research*,18(1),132.

Meng,X.-M.,Nikolic-Paterson,D.J.,&Lan,H.Y. (2016).TGF- β :The master regulator of fibrosis. *NatureReviews. Nephrology*,12(6),325-338.

Ortiz-Zapater, E., Signes-Costa, J., Montero, P., & Roger, I. (2022). Lung Fibrosis and Fibrosis in the Lungs: Is It All about Myofibroblasts? *Biomedicines*, 10(6), 1423.

Yaquib, N., Wayne, G., Birchall, M., & Song, W. (2022). Recent advances in human respiratory epithelium models for drug discovery. *Biotechnology Advances*, 54, 107832.

Zhao, M., Wang, L., Wang, M., Zhou, S., Lu, Y., Cui, H., Racanelli, A. C., Zhang, L., Ye, T., Ding, B., Zhang, B., Yang, J., & Yao, Y. (2022). Targeting fibrosis, mechanisms and clinical trials. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 206.

Terapia con células madre mesenquimales para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

Rambla-Aguilar, Marta

Universitat Politècnica de València

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica autoinmune que afecta al sistema nervioso central, causando desmielinización e inflamación que dan lugar a múltiples síntomas neurológicos. La EM presenta una gran incidencia a nivel mundial, pero los tratamientos actuales se centran solamente en el control de sus síntomas ya que todavía no se ha logrado detener completamente su avance. Gracias al potencial inmunomodulador y neuroprotector de las células madre mesenquimales (CMM), esta terapia celular surge como una alternativa prometedora que busca encontrar una cura a la EM. El objetivo del presente trabajo es analizar los mecanismos de acción de las CMM, su aplicación en modelos experimentales y en ensayos clínicos, así como sus limitaciones y perspectivas futuras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica sobre el uso de CMM para tratar la EM en las bases de datos "PubMed" y "ClinicalTrials.gov". Se incluyeron artículos originales, revisiones y ensayos clínicos recientes, los cuales destacaron el gran potencial terapéutico de estas células. Por otro lado, se excluyeron estudios que no se centraban exclusivamente en el tratamiento de la EM o que empleaban otro tipo de terapias. También, aquellos en los que no participaban modelos murinos de la encefalomiелitis autoinmune (EAE).

RESULTADOS

Se encontró un total de 16 trabajos relacionados con el empleo de las CMM para tratar la EM. Todos ellos evidencian que las CMM son capaces de modular la respuesta autoinmune del organismo mediante varios mecanismos como la inhibición de linfocitos T autorreactivos, la secreción de citoquinas antiinflamatorias (TGF- β , IL-10) y la remielinización neuronal empleando factores de crecimiento. Tras la administración en modelos de EAE de CMM sometidas previamente a varios tratamientos (diferenciación o precondicionamiento), se observó una reducción de la infiltración de células inflamatorias, regeneración tisular y mejora del ambiente neuroprotector. Además, se llevaron a cabo ensayos clínicos en humanos, los cuales todavía se encuentran en fase II. Sin embargo, hasta el momento estos han resultado satisfactorios, pues mejoran la función neurológica sin mostrar efectos adversos graves, aunque con respuestas variables entre los pacientes. Por otro lado, están en desarrollo técnicas muy prometedoras como el uso del secretoma de las CMM, la terapia que combina estas células con los fármacos tradicionales o el uso de CMM autólogas modificadas genéticamente, con el fin de mejorar su capacidad terapéutica.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

La terapia con CMM para tratar la EM es un enfoque muy innovador y prometedor, el cual contribuye significativamente a encontrar una cura definitiva para esta enfermedad tan incidente. Aunque existe evidencia preclínica y clínica sobre su potencial terapéutico gracias a sus efectos inmunomoduladores y neuroprotectores, todavía existen múltiples desafíos que superar para lograr asentar esta terapia. Se requiere optimizar y estandarizar los protocolos de obtención y

administración de las CMM con el fin de reducir la heterogeneidad de los resultados. Además, es crucial llevar a cabo estudios a largo plazo para reafirmar la seguridad y eficacia de estas células.

BIBLIOGRAFÍA

Cuascut, F. X., & Hutton, G. J. (2019). Stem Cell-Based Therapies for Multiple sclerosis: Current perspectives. *Biomedicines*, 7(2), 26. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7020026>

Gugliandolo, A., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2020). Mesenchymal Stem Cells in Multiple Sclerosis: Recent Evidence from Pre-Clinical to Clinical Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8662. <https://doi.org/10.3390/ijms21228662>

Gupta, A., & Singh, S. (2021). Potential Role of Growth Factors Controlled Release in Achieving Enhanced Neuronal Trans-differentiation from Mesenchymal Stem Cells for Neural Tissue Repair and Regeneration. *Molecular Neurobiology*, 59(2), 983–1001. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02646-w>

Zhou, X., Liu, X., Liu, L., Han, C., Xie, Z., Liu, X., Xu, Y., Li, F., Bi, J., & Zheng, C. (2020). Transplantation of IFN- Γ primed HUCMSCs significantly improved outcomes of experimental autoimmune encephalomyelitis in a mouse model. *Neurochemical Research*, 45(7), 1510–1517. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03009-y>

“Apagando genes para encender la vista”: revisión bibliográfica metodológica para el knockout del gen RHO en pacientes con retinitis pigmentosa.

Jonathan San José Sánchez, Cristina García Bonillo

Universidad Europea de Valencia

INTRODUCCIÓN

La retinitis pigmentosa (RP) es una enfermedad genética que provoca degeneración progresiva de los fotorreceptores, causando ceguera. Este trabajo realiza una revisión bibliográfica de la metodología que se podría aplicar terapia génica basada en la tecnología CRISPR-Cas9 para editar el gen RHO, comúnmente mutado en RP. Diversos autores han conseguido generar fotorreceptores antes de ser trasplantados a la retina del paciente (Xiaozhen et al., 2023; Albadri et al., 2017), por lo que esta estrategia innovadora ofrece esperanza para tratar ceguera genética de forma personalizada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica para analizar la posible aplicación de la terapia de edición génica CRISPR-Cas9 en la retinitis pigmentosa (RP). El estudio se centró en metodologías para la edición del gen RHO, incluyendo el diseño de secuencias de ARN guía basadas en mutaciones específicas de los pacientes. Se evaluaron diversas variantes de la enzima Cas9 mediante bases de datos bioinformáticas para garantizar su compatibilidad con la terapia. Además, se revisaron protocolos para la reprogramación de células epiteliales del paciente en células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) y su diferenciación en fotorreceptores funcionales. Finalmente, se analizaron distintos vectores virales, como los virus adenoasociados (AAV) y los lentivirus, para evaluar su eficiencia en la entrega del sistema CRISPR-Cas9 a las células retinianas.

RESULTADOS

El análisis de la literatura sobre la terapia génica para la retinitis pigmentosa (RP) resalta los avances en la edición del gen RHO mediante CRISPR-Cas9. Los estudios revisados han demostrado la eficacia de esta tecnología para inactivar la copia mutada del gen, reduciendo su impacto en la degeneración retiniana. La selección de variantes de Cas9 compatibles con la terapia ha optimizado la precisión del corte genómico, minimizando efectos off-target. Asimismo, la reprogramación de células epiteliales en iPSCs y su posterior diferenciación en fotorreceptores ha mostrado resultados prometedores en modelos experimentales. La evaluación de vectores virales sugiere que los virus adenoasociados (AAV) ofrecen una entrega eficiente del sistema CRISPR-Cas9 a las células retinianas. En conjunto, estos avances respaldan la viabilidad de esta estrategia terapéutica y su potencial aplicación clínica en el tratamiento de la RP.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

La terapia de edición génica Knock-Out con células madre modificadas se perfila como una estrategia innovadora y prometedora para el tratamiento de la retinitis pigmentosa infantil. La aplicación de CRISPR-Cas9 permite la edición precisa del gen RHO, corrigiendo mutaciones genéticas responsables de la enfermedad y abriendo nuevas posibilidades para la restauración de la visión. Los avances en la reprogramación celular y la diferenciación de iPSCs en

fotorreceptores funcionales refuerzan el potencial de esta aproximación terapéutica. Sin embargo, persisten desafíos técnicos y de seguridad, como la optimización de la entrega del sistema CRISPR-Cas9 y la minimización de efectos no deseados. A medida que la tecnología avanza, la terapia génica personalizada podría convertirse en una alternativa efectiva para tratar la ceguera genética, ofreciendo esperanza a los pacientes afectados por esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

Xiaozhen Liu, Jing Qiao, Ruixuan Jia, Fan Zhang, Xiang Meng, Yang Li, Liping Yang (2023) Allele-specific gene-editing approach for vision restoration in RHO-associated retinitis pigmentosa eLife 12:e84065

Albadri S, De Santis F, Di Donato V, Del Bene F. CRISPR/Cas9-Mediated Knockin and Knockout in Zebrafish. 2017 Sep 15. In: Jaenisch R, Zhang Gage F, editors. Genome Editing in Neurosciences [Internet]. Cham (CH): Springer; 2017. PMID: 31314440.

Revisión de la metodología para la secuenciación en la predicción de malformaciones congénitas en fetos.

Sánchez Alcázar, X. García Bonillo, C.

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Europea de Valencia

INTRODUCCIÓN

Alrededor de la sexta semana del embarazo se da la fusión de los paladares, sin embargo, hay casos en los que esto no pasa resultando en las malformaciones de tipo hendiduras orofaciales congénitas (OFC). Éstas son la segunda malformación más prevalente en el mundo. Los tratamientos para estos diagnósticos se basan en cirugías para corregir el paladar y el labio en los primeros años de vida, acompañados de terapia para el habla, estrategias de alimentación y control con dentistas. Aunque no se ha detectado una causa genética específica para esto, sí que se ha visto la asociación con variaciones en el genoma. Hoy, el método de diagnóstico es la detección por medio de un ultrasonido seguido de microarrays o cariotipos para confirmar la sospecha. Sin embargo, estas técnicas tienen una gran limitación ya que no pueden detectar las mutaciones genéticas de un solo alelo. Por lo tanto, a través de esta revisión de metodología se propone el uso de la secuenciación de exomas para identificar nuevos alelos que puedan estar relacionados con la aparición de las OFCs y posteriormente su uso para el diagnóstico de éstas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio, se tomaron en cuenta 107 embarazos únicos que habían sido previamente diagnosticados con OFCs por un ultrasonido. Se hicieron dos grupos, uno que presentaba la malformación aislada y otro denominado sindrómico que va acompañado de otras presentaciones clínicas. Se hizo el cariotipo y microarray de ambos para descartar casos que ya se pueden diagnosticar con estas técnicas. Se tomaron muestras de sangre del cordón umbilical, amniocitos y vellosidades coriónicas del feto, también de los padres para demostrar la posible herencia de los alelos. Se procedió a hacer la secuenciación de exomas que fueron seleccionados a la hora de la preparación de las libraries y posteriormente se secuenció con Illumina. Finalmente, se hizo el alineamiento de las secuencias utilizando genomas sanos como referencia.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Por lo tanto, se demuestra como el diagnóstico por medio de la secuenciación de exomas puede ser una herramienta importante para el diagnóstico de OFCs. Esto, ya que no solo logró demostrar que puede detectar las malformaciones en fetos tanto sindrómicas como aisladas, sino que también permite encontrar diferentes variantes en el genoma que pueden culminar en la aparición de este tipo de malformaciones.

BIBLIOGRAFÍA

Chau, M. H., Choolani, M., Dong, Z., Cao, Y., & Choy, K. W. (2024). Genome sequencing in the prenatal diagnosis of structural malformations in the fetus. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 97, 102539. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2024.102539>

Sharma, I., Negi, N., & Saha, S. C. (2024). Sequencing: A promising path in the detection of fetal health. *Non-Invasive Prenatal Screening (NIPS) in Clinical Practice*, 273–288.

https://doi.org/10.1007/978-981-97-6402-0_16

Wang, Y., Greenfeld, E., Watkins, N., Belesiotes, P., Zaidi, S. H., Marshall, C., Thiruvahindrapuram, B., Shannon, P., Roifman, M., Chong, K., Chitayat, D., Stavropoulos, D. J., & Noor, A. (2022). Diagnostic yield of genome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies. *Prenatal Diagnosis*, 42(7), 822–830. <https://doi.org/10.1002/pd.6108>

Yan, S., Fu, F., Li, R., Yu, Q., Li, F., Zhou, H., Wang, Y., Huang, R., Ma, C., Guo, F., Wang, D., Yang, X., Han, J., Lei, T., Li, D., & Liao, C. (2023). Exome sequencing improves genetic diagnosis of congenital orofacial clefts. *Frontiers in genetics*, 14, 1252823.

Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) potential as a modulator of cafeteria diet-induced disruptions of succinic acid metabolism.

Llena-Meler M

Grupo de Investigación en Nutrigenómica, Universitat Rovira i Virgili

INTRODUCCIÓN

Metabolic syndrome is a complex disorder characterized by central obesity, insulin resistance, hypertension, and dyslipidemia. High-calorie diets, such as the cafeteria diet, exacerbate these conditions by disrupting metabolic signaling and circadian rhythms of key metabolic genes in animal models (Navarro-Masip et al., 2023). Succinic acid, a key intermediate in the Krebs cycle, has emerged as a signaling molecule whose levels fluctuate in pathological conditions (Fernández-Veledo et al., 2021). Polyphenols, particularly grape seed proanthocyanidin extract (GSPE), have shown potential in modulating metabolic disturbances (Rodríguez et al., 2022). This study aims to investigate the effects of GSPE on succinate receptor (SUCNR1) expression and succinate metabolism disruptions in a cafeteria diet-induced metabolic syndrome model.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fisher 344 rats were divided into three groups: (1) cafeteria diet-GSPE, (2) cafeteria diet-vehicle, and (3) standard diet-vehicle. Treatments were administered, and animals were sacrificed at 6-hour intervals to assess rhythmic expression, evaluating circadian influences on succinate metabolism. SUCNR1 expression was assessed via PCR, and protein expression through Western blot. Analyses have been conducted to quantify succinate levels in blood and fecal water using metabolomics, and data from metagenomic studies have been collected to identify succinate-producing and succinate-consuming bacterial strains in the gut microbiota of each group. Rhythmicity has been calculated via cosinor method.

RESULTADOS

The gene expression of *Sucnr1* follows a rhythmic pattern in both eWAT and iWAT, confirming its circadian regulation in adipose tissues. The cafeteria diet disrupts *Sucnr1* rhythmic expression in adipose tissues, indicating an alteration in circadian mechanisms that could negatively impact metabolic regulation. GSPE treatment partially restores *Sucnr1* rhythmicity in eWAT and iWAT, suggesting a protective role against diet-induced circadian disruptions. These results have been obtained in adipose tissues, but ongoing analyses are focusing on colon samples to determine whether similar patterns occur in this tissue. The colon is of particular interest due to the role of microbiota-derived succinate in metabolic homeostasis. Data on succinate levels and metagenomic analysis are still being processed and will provide further insights into the interaction between diet, microbiota, and succinate metabolism.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

These findings suggest that a cafeteria diet disrupts circadian regulation of succinate metabolism, potentially affecting metabolic homeostasis. GSPE may help mitigate these disruptions in adipose tissues, but its role in other tissues remains unclear. Further analyses will focus on the colon, where SUCNR1 expression, succinate metabolism, and microbiota interactions will be examined

due to the importance of microbiota-derived succinate in metabolic regulation (Villanueva-Carmona et al., 2023).

BIBLIOGRAFÍA

Fernández-Veledo, S., Ceperuelo-Mallafré, V., & Vendrell, J. (2021). Rethinking succinate: an unexpected hormone-like metabolite in energy homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 32(9), 680–692. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.06.003>

Navarro-Masip, È., Colom-Pellicer, M., Manocchio, F., Arola-Arnal, A., Bravo, F. I., Muguerza, B., & Aragonès, G. (2023). Grape-Seed Proanthocyanidins Modulate Adipose Tissue Adaptations to Obesity in a Photoperiod-Dependent Manner in Fischer 344 Rats. *Nutrients*, 15(4), 1037. <https://doi.org/10.3390/nu15041037>

Rodríguez, R. M., Cortés-Espinar, A. J., Soliz-Rueda, J. R., Feillet-Coudray, C., Casas, F., Colom-Pellicer, M., Aragonès, G., Avila-Román, J., Muguerza, B., Mulero, M., & Salvadó, M. J. (2022). Time-of-Day Circadian Modulation of Grape-Seed Procyanidin Extract (GSPE) in Hepatic Mitochondrial Dynamics in Cafeteria-Diet-Induced Obese Rats. *Nutrients*, 14(4), 774. <https://doi.org/10.3390/nu14040774>

Villanueva-Carmona, T., Cedó, L., Madeira, A., Ceperuelo-Mallafré, V., Rodríguez-Peña, M.-M., Núñez-Roa, C., Maymó-Masip, E., Repollés-de-Dalmau, M., Badia, J., Keiran, N., Mirasierra, M., Pimenta-Lopes, C., Sabadell-Basallote, J., Bosch, R., Caubet, L., Escolà-Gil, J. C., Fernández-Real, J.-M., Vilarrasa, N., Ventura, F., ... Fernández-Veledo, S. (2023). SUCNR1 signaling in adipocytes controls energy metabolism by modulating circadian clock and leptin expression. *Cell Metabolism*, 35(4), 601-619.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.03.004>

Aplicaciones de CRISPR/Cas9 en enfermedades neurodegenerativas orientadas al tratamiento de Parkinson.

Sales Buj, T.

Centro Europeo de Másteres y Postgrados

INTRODUCCIÓN

La tecnología CRISPR/Cas9 ha transformado la investigación biomédica, permitiendo modificaciones precisas en el ADN. Su aplicación en la enfermedad de Parkinson (EP), un trastorno neurodegenerativo relacionado con la pérdida de neuronas dopaminérgicas, ofrece nuevas oportunidades para crear modelos experimentales y explorar tratamientos potenciales. Aunque no existe una cura que detenga su progresión, CRISPR/Cas9 se presenta como una herramienta prometedora para corregir mutaciones genéticas, investigar mecanismos patológicos y desarrollar estrategias terapéuticas innovadoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de una revisión bibliográfica. Se realizó una revisión en PubMed y Scopus hasta 2025, utilizando keywords como "CRISPR/Cas9", "Parkinson's disease", "gene therapy" y "neurodegeneration". Se incluyeron estudios revisados sobre el uso de CRISPR/Cas9 en modelos celulares, animales o terapias experimentales en la EP u otras enfermedades neurodegenerativas que pudieran aportar información relevante.

RESULTADOS

Los estudios revisados muestran que CRISPR/Cas9 ha sido fundamental en el estudio y posible tratamiento de la EP, destacando tres áreas clave:

1. Modelos celulares y animales:

Se han creado modelos celulares con mutaciones en SNCA, LRRK2 y PARKIN, permitiendo estudiar la progresión de la EP. En modelos animales, la edición de genes específicos ha replicado características de la enfermedad y facilitado la evaluación de terapias experimentales.

2. Corrección de mutaciones genéticas:

CRISPR/Cas9 ha logrado modificar mutaciones patogénicas, restaurando funciones celulares y reduciendo la acumulación de proteínas tóxicas.

3. Avances en la administración de CRISPR/Cas9

Se han explorado vectores virales (AAV, lentivirus) y nanopartículas para optimizar la entrega al cerebro y minimizar efectos adversos.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

A pesar de los avances, CRISPR/Cas9 enfrenta varios desafíos antes de su aplicación clínica:

1. Seguridad y precisión: Reducir errores fuera del objetivo.
2. Métodos de entrega eficientes: Es necesario mejorar la distribución en el tejido cerebral.

3. Validación en ensayos clínicos: Los resultados en modelos experimentales son prometedores pero la aplicación a humanos requiere evaluaciones rigurosas.
4. Consideraciones éticas/regulatorias: Se debe establecer una normativa antes de su uso en personas.

CRISPR/Cas9 es una alternativa innovadora, con algunas mejoras, podría convertirse en una terapia para enfermedades neurodegenerativas.

BIBLIOGRAFÍA

Klinkovskij, A., Shepelev, M., Isaakyan, Y., Aniskin, D., & Ulasov, I. (2023). Advances of Genome Editing with CRISPR/Cas9 in Neurodegeneration: The Right Path towards Therapy. *Biomedicines*, 11(12), 3333. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123333>

Qu, J., Liu, N., Gao, L., Hu, J., Sun, M., & Yu, D. (2023). Development of CRISPR Cas9, spin-off technologies and their application in model construction and potential therapeutic methods of Parkinson's disease. *Frontiers in neuroscience*, 17, 1223747. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1223747>

Rahman, M. U., Bilal, M., Shah, J. A., Kaushik, A., Teissedre, P. L., & Kujawska, M. (2022). CRISPR-Cas9-Based Technology and Its Relevance to Gene Editing in Parkinson's Disease. *Pharmaceutics*, 14(6), 1252. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061252>

Thapar, N., Eid, M. A. F., Raj, N., Kantas, T., Billing, H. S., & Sadhu, D. (2023). Application of CRISPR/Cas9 in the management of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a review. *Annals of medicine and surgery* (2012), 86(1), 329–335. <https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000001500>

Dissecting the effects of radiation therapy on clonal hematopoiesis.

Di Carli, M., Amorós-Pérez, M., Zorita, V., Fuster, J.J.

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC)

INTRODUCCIÓN

Highly proliferative tissues such as the hematopoietic system are prone to accumulate acquired mutations, especially as a consequence of aging. Some mutations in cancer-associated genes that appear in hematopoietic stem cells (HSCs) confer a competitive advantage and promote the expansion of the mutant HSC, without producing malignancy. As HSCs differentiate into mature blood cells, over time mutant clones populate the peripheral blood. This phenomenon is known as clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). It greatly increases the risk in mortality, the main cause of death being due to cardiovascular disease (CVD). Although this phenomenon is most commonly associated with age, there is an emerging cohort of cancer survivors that exhibit CHIP mutations, the most frequent affecting TP53, PPM1D and CHK1 – all DNA Damage Response (DDR) pathway genes. In this context, it is hypothesized that an HSC acquires the mutation but lies dormant until it is activated by oncological treatments (i.e., ionizing radiation), which provides the extrinsic pressure to expand. Prior invitro studies have suggested that PPM1D-mutant HSCs are capable of surviving genotoxic challenges due to the combination of diminished apoptosis and higher rates of proliferation. For this reason, we aimed to study the effects of ionizing radiation on PPM1D-mutant HSCs with the objective of analyzing the activation of DDR pathways at the RNA and protein level. To achieve this, we combined a 100% bone marrow transplant (BMT) and ionizing radiation therapy to drive the clonal expansion of PPM1D-mutant HSCs. PPM1DR451X/+ knock-in mice (originally designed by Hsu et al., (2018)) were used as they carry the murine equivalent of the monoallelic mutation R458X gain-of-function mutation observed in humans. The mRNA expression of various DDR genes and downstream targets were characterized by qPCR. A significant downregulation was observed in the following DDR genes that are known to be regulated by PPM1D: Atm, Atr, Mapk14 and Tp53. Furthermore, PPM1D-mutant clones showed a significantly diminished mRNA expression of the genes that code for the effector proteins NOXA, BAX, CHK2, and p21 compared to WT counterparts. To further quantify the activation of the apoptosis pathway, we evaluated the detection of Cleaved Caspase-3 by Flow Cytometry (FC) of hematopoietic stem and progenitor cells. PPM1D-mutant LSK (most undifferentiated BM cell type) had significantly less cleaved Caspase-3 compared to WT LSK cells. Altogether, the results from the qPCR and FC analysis demonstrate that PPM1D-mutant BM cells have a diminished signaling of the DDR pathway resulting in reduced activation of apoptosis. Additionally, the reduction in mRNA expression of Chk1 and Cdkn1a suggests PPM1D-mutants attenuate senescent cell programming. Overall, this study presents a novel approach as no previous study had evaluated this hypothesis in BM progenitors. Despite its preliminary nature, it provides a possible mechanism driving the clonal expansion of PPM1D-mutant cells. As CVD continues to be the leading cause of mortality worldwide this highlights the need for personalized medicine. This can be achieved by developing new medications and strategies to mitigate the effects of CHIP on CVD through mechanistic studies, such as the present one.

BIBLIOGRAFÍA

Bick, A.G., Weinstock, J.S., Nandakumar, S.K. et al. (2020). Inherited causes of clonal haematopoiesis in 97,691 whole genomes. *Nature*, 586, 763–768.

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2819-2>

Amorós-Pérez, M. & Fuster, J. J. (2020). Clonal hematopoiesis driven by somatic mutations: A new player in atherosclerotic cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 297, 120-126.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.02.008>

Hsu, J. I., Dayaram, T., Tovy, A., De Braekeleer, E., Jeong, M., Wang, F., Zhang, J., Heffernan, T. P., Gera, S., Kovacs, J. J., Marszalek, J. R., Bristow, C., Yan, Y., Garcia-Manero, G., Kantarijan, H., Vassiliou, G., Futreal, P. A., Donehower, L. A., Takahashi, K., & Goodell, M. A. (2018). PPM1D Mutations Drive Clonal Hematopoiesis in Response to Cytotoxic Chemotherapy. *Cell Stem Cell*, 23(5), 700-713. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.10.004>

Amorós Pérez, M. (2023). New age-related mechanisms of atherosclerosis and immune cell dysfunction: role of LMNA and PPM1D. [Published Doctoral Thesis]. Autonomous University of Madrid

Revisión bibliográfica sobre la metodología para el diagnóstico de meningitis bacteriana por PCR múltiple.

Berrocal A., García Bonillo C.

Universidad Europea de Valencia, Facultad de ciencias de la salud

INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS

La meningitis bacteriana es una de las principales infecciones que afectan al sistema nervioso central y se caracteriza por la inflamación de las meninges, causada por la proliferación de bacterias en el líquido cefalorraquídeo (LCR), un entorno habitualmente estéril. Al ser una enfermedad de rápida progresión, si no se trata rápidamente puede provocar graves complicaciones, como daño cerebral o en casos extremos la muerte. El diagnóstico se suele realizar con una punción lumbar en la que se extrae una pequeña cantidad de LCR que se analiza por cultivos microbiológicos, secuenciación NGS o métodos moleculares como la PCR, y en especial una variante denominada PCR múltiple. De este modo, el objetivo de esta revisión es comprender el mecanismo de funcionamiento y la efectividad de la PCR múltiple en el diagnóstico preciso de pacientes tanto positivos y negativos al cultivo bacteriológico de bacterias causantes de meningitis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de los pacientes, específicamente las 447 muestras, se obtuvieron del Hospital Universitario de la Universidad de São Paulo y del Instituto de Infectología Emílio Ribas. De estas muestras se obtuvieron 27 positivas y 420 negativas para el cultivo bacteriológico, y estas se dividieron en tres grupos según distintos parámetros de actividad bioquímica, microbiológica e inmunológica derivada de los pacientes. Previamente, al análisis de las muestras por PCR, se realizó una extracción de DNA de los principales agentes etiológicos para la cuantificación y evaluación de la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica por PCR múltiple. Además, se realizó una PCR múltiple inicial en la que se amplificaron los genomas de distintos géneros bacterianos, entre ellos los agentes etiológicos objetivos, para verificar la correcta funcionalidad de los primers diseñados y de la propia PCR múltiple. Las extracciones del genómico o DNA se realizaron utilizando kits especiales y choques térmicos de frío y calor con posterior congelación a -25°C .

RESULTADOS

Para la evaluación de la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica por PCR múltiple se determinó el límite inferior de detección mediante concentraciones decrecientes de DNA genómico purificado de 4 géneros bacterianos, en un rango de $1000\text{ pg}/\mu\text{L}$ a $0,1\text{ pg}/\mu\text{L}$ por reacción. Para los cuatro patógenos objetivo de este ensayo, el límite de detección fue de $1\text{ pg}/\mu\text{L}$. La PCR realizada para comprobar el correcto diseño de los primers fue exitosa, y se amplificaron eficientemente los genes de los agentes etiológicos objetivo. Aparte, los amplicones correspondientes al gen rRNA 16S se detectaron para todas las especies bacterianas. No se detectaron amplificaciones utilizando muestras de LCR positivas para hongos. Finalmente, se lograron identificar en las 420 muestras negativas para el cultivo, 13 falsos negativos correspondientes al grupo II.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los resultados evidencian la necesidad de la incorporación de la PCR múltiple para el diagnóstico etiológico de la meningitis en los laboratorios clínicos. Además, se ha comprobado su eficacia en cultivos que dan falsos negativos derivados de pacientes con tratamiento farmacológico o con terapia antimicrobiana, y esta parece ayudar en el diagnóstico diferencial entre meningitis bacteriana y viral, donde los resultados de los métodos convencionales no son concluyentes.

BIBLIOGRAFÍA

Albuquerque, R. C., Moreno, A. C. R., dos Santos, S. R., Ragazzi, S. L. B., & Martinez, M. B. (2019). Multiplex-PCR for diagnosis of bacterial meningitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(2), 435–443. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00055-9>

Diallo, K., Fete, V. F., Ibe, L., Antonio, M., Caugant, D. A., du Plessis, M., Deghmane, A. E., Feavers, I. M., Fernandez, K., Fox, L. A. M., Rodrigues, C. M. C., Ronveaux, O., Taha, M. K., Wang, X., Brueggemann, A. B., Maiden, M. C. J., & Harrison, O. B. (2021). Molecular diagnostic assays for the detection of common bacterial meningitis pathogens: A narrative review. In *EBioMedicine* (Vol. 65). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103274>

Revisión bibliográfica del uso de CRISPR/Cas9 para el tratamiento de la distrofia muscular asociada al colágeno VI.

Calero Lagos Z. García Bonillo C.

Universidad Europea de Valencia

INTRODUCCIÓN

El uso de tratamientos como CRISPR/Cas9, que en su momento ya fueron revolucionarios, pueden llegar a ser de gran interés debido a su fácil manejo comparado con otras técnicas. Pero eso no hace que en ciertas ocasiones puedan llegar a ser más complejas si pueden identificar distintas secuencias como diana, como es el caso de la atrofia muscular asociada al colágeno VI. Para ello, en esta búsqueda bibliográfica, se busca explicar cómo a través de la introducción de errores pautados en las secuencias guía, se puede llegar a mejorar la especificidad de este sistema, incrementando la seguridad de estas técnicas donde se busque realizar un knockout a una única copia de un gen cuando se requiere de un gran grado de precisión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para esta terapia se destacaron un total de 6 señales guía para comprobar cuál de estas presenta una mayor especificidad. Los primeros en diseñarse fueron en sgRNA-A/B, siendo el A complementario a la cadena 3'-5' y el B complementario a la cadena 5'-3', según la respuesta recibida se fueron rediseñando con errores para ver si estos mejoraban la respuesta siguiendo el molde del sgRNA-A (2t, 3a, 4a, 4b). Esto se hizo en 4 tipos celulares de pacientes de 6 y 30 años, hombres y mujeres, además de un control. Para ello se hicieron cultivos celulares con las 5 muestras para posteriormente hacer una nucleofección en la que se introdujo el plásmido pSpCas9-2A-GFP (PX458) con los distintos sgRNAs. Posterior a esto se hizo una citometría para eliminar las células muertas y mantener aquellas transformadas que expresaban la GFP. Después, se realizó una secuenciación y una inmunotinción para observar la matriz de colágeno y el grado de lecturas favorables para la reparación.

RESULTADOS

Tras analizar las secuencias transcritas y el inmunomarcaje se vio como se generaba una mejor respuesta por parte del sgRNA-A4a, con una mayor eficacia en el paciente 2 (del que no se indica sexo y edad).

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Tras los resultados obtenidos de la búsqueda bibliográfica, se concluyó que el uso de errores en las guías puede mejorar la especificidad cubriendo las investigaciones en las que se busque hacer un knockout en secciones donde se debe asegurar la precisión del tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

García-Galiano, D., Pinilla, L., & Tena-Sempere, M. (2012). Sex steroids and the control of the Bolduc, V., Sizov, K., Brull, A., Esposito, E., Chen, G. S., Uapinyoying, P., Sarathy, A., Johnson, K. R., & Bönnemann, C. G. (2024). Allele-specific CRISPR-Cas9 editing inactivates a single

nucleotide variant associated with collagen VI muscular dystrophy. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 35(3), 102269.

Leal, A., Herreno-Pachón, A., Benincore-Flórez, E., Karunathilaka, A., & Tomatsu, S. (2024). Current strategies for increasing knock-in efficiency in CRISPR/Cas9-based approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2456.

Papel del calcio intracelular en la angiogénesis mediada por activación de CREB.

Escacena Izquierdo L., Galeano Otero I., Smani Hajami T.

Grupo de Fisiopatología Cardiovascular, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla

INTRODUCCIÓN

La angiogénesis, definida como la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes, es esencial para numerosos procesos fisiológicos y patológicos. Se trata de un fenómeno liderado por las células endoteliales (CE) y regulado por los cambios en la concentración intracelular de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). Diferentes estudios destacan el papel de CREB (cAMP Response Element Binding) en la transcripción de genes proangiogénicos (Mayo et al., 2001). Recientemente, nuestro grupo demostró la participación de la entrada de Ca^{2+} a través de SOCE (Store Operated Calcium Entry) en la angiogénesis (Galeano et al., 2021). Por tanto, en este estudio perseguimos dilucidar el papel del cambio en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en la angiogénesis mediada por activación de CREB.

MATERIAL Y MÉTODOS

La angiogénesis in vitro se estudió usando el modelo de formación de tubos sobre Matrigel® y la línea de CE HMEC-1. Para ello, se sembraron células en las placas de Ibidi® μ -Slide Angiogenesis con distintas concentraciones del análogo del AMP cíclico (db-AMPC). Por otro lado, para el análisis de la activación de CREB en las HMEC-1, éstas se incubaron con concentraciones crecientes de db-AMPC, taspigargina (TG) y GSK-7975A (GSK); y posteriormente se estudió la fosforilación de CREB por inmunofluorescencia. Igualmente, se evaluó la expresión de genes relacionados con la angiogénesis SOCE usando RT-qPCR tras el tratamiento con db-AMPC. A continuación, se transfectaron las HMEC-1 con siARNs para silenciar la expresión de CREB y Orai1. Tras esto, se analizó el impacto sobre la expresión de genes y proteínas mediante RT-qPCR y Western Blot, así como sobre el proceso de entrada de Ca^{2+} por SOCE mediante microfluorimetría de Ca^{2+} . El análisis estadístico de los datos se realizó mediante GraphPad empleando las pruebas de Kruskal-Wallis o ANOVA.

RESULTADOS

Nuestros resultados demuestran que el tratamiento de las HMEC-1 con db-AMPC produce un aumento de la activación de CREB, así como una tendencia al alza en la capacidad para formar mallas sobre Matrigel®. Además, se observa un aumento en la expresión de *Creb* y *Vcam1* en aquellas células tratadas con db-AMPC. Por otro lado, la incubación con TG activa significativamente la fosforilación de CREB, fenómeno que desaparece en presencia del inhibidor de SOCE, GSK. El silenciamiento de Orai1 produce una disminución en la expresión de *Stim1* y un aumento de *Vegfa* a nivel de ARNm. Por su parte, la inhibición de la expresión de CREB lleva a un aumento en la expresión de Orai1 a la vez que reduce los niveles de *Vegfa* y VEGFR2. Finalmente, se observa que el silenciamiento de CREB provoca un aumento en la entrada de Ca^{2+} mediada por SOCE.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Nuestros datos evidencian el papel de CREB en la angiogénesis y muestran, por primera vez, la relación de la entrada de Ca^{2+} vía SOCE con la activación de este factor de transcripción en las CE. El conjunto de estos resultados pone de manifiesto la compleja regulación a la que está sometida la neovascularización, lo que explica la dificultad en el uso de la angiogénesis como diana terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA

Mayo, L. D., Kessler, K. M., Pincheira, R., Warren, R. S., & Donner, D. B. (2001). Vascular endothelial cell growth factor activates CRE-binding protein by signaling through the KDR receptor tyrosine kinase. *The Journal of biological chemistry*, 276(27), 25184–25189. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102932200>

Galeano-Otero, I., Del Toro, R., Khatib, A. M., Rosado, J. A., Ordóñez-Fernández, A., & Smani, T. (2021). SARAF and Orai1 Contribute to Endothelial Cell Activation and Angiogenesis. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 639952. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.639952>

Variaciones en la morfometría del cilio primario según la actividad del folículo tiroideo.

Pérez-Fernández B., Fernández-Santos J.M., Vázquez-Román V., Martín-Lacave I.

Dpto. de Citología e Histología Normal y Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla

INTRODUCCIÓN

Los cilios primarios (CP) en la glándula tiroidea se localizan en el ápice de los tirocitos dirigidos hacia el lumen (Fernández-Santos et al., 2019), donde probablemente detectan el entorno del coloide y contribuyen a la hormonogénesis tiroidea. Aunque, nuestro grupo observó cambios en los CP según diferentes estados fisiopatológicos del tiroides, no hemos encontrado relación directa entre la ciliogénesis y el tamaño de los folículos o la altura del epitelio folicular (Fernández-Santos et al., 2019). Probablemente, estas variaciones se deban a la heterogeneidad intrínseca del tiroides, siendo cada folículo una entidad morfofuncional independiente, con un ritmo biosintético propio bajo la influencia de la TSH. En este trabajo, planteamos identificar diferentes patrones de actividad folicular tiroidea con la finalidad de analizar si existe alguna relación entre la actividad folicular y la ciliogénesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron tinciones de H-E, PAS e inmunohistoquímica para marcadores tiroideos específicos, como tiroglobulina (TG) y tiroperoxidasa (TPO) en secciones de tiroides humano. Además, se realizó la doble inmunofluorescencia (IF) para demostrar el axonema del CP (α -tubulina acetilada) junto con TG. La incubación con los anticuerpos primarios específicos estuvo seguida de anticuerpos secundarios conjugados con fluorocromos. El análisis morfométrico incluyó la cuantificación de la frecuencia y longitud de los CP de un mínimo de 1000 células foliculares por cada patrón folicular. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA.

RESULTADOS

Según la altura del epitelio folicular y la densidad del coloide, se identificaron cuatro patrones de folículos tiroideos: activos, hiperactivos, hipoactivos y vacíos. Estas características se relacionan con la actividad biosintética de cada folículo. Encontramos una relación estadísticamente significativa entre el patrón folicular y la morfometría del CP, siendo los folículos activos los que presentaron el mayor porcentaje de tirocitos ciliados ($64,58 \pm 2,38$), seguidos de los hiperactivos ($61,63 \pm 1,55$), hipoactivos ($42,30 \pm 1,95$) y vacíos ($25,74 \pm 1,19$). Respecto a la longitud de los CP, se observaron diferencias significativas entre patrones foliculares, siendo los folículos activos los que mostraron los CP más largos $2,24$ ($1,67-2,99$), seguidos de los hipoactivos $1,78$ ($1,27-2,43$), hiperactivos $1,38$ ($1,02-1,85$) y vacíos $1,12$ ($0,82-1,5$) μm .

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos demuestran una asociación entre la actividad folicular y los CP, siendo la densidad del coloide el rasgo principal a considerar en relación con el papel que desempeñan los CP en la hormonogénesis tiroidea. Los CP están sumergidos en el coloide, donde pueden detectar la cantidad de TG almacenada. Al igual que los CP actúan como mecanosensores en células sometidas a flujo de fluidos (túbulos renales o conductos biliares), tiene sentido que, en un compartimento cerrado como los folículos tiroideos, exista un mecanismo especializado para

informar del llenado del folículo y, con ello, autorregular a las células productoras de TG. Este nuevo papel es compatible con otras posibles funciones de los CP en el tiroides, como la quimiotransducción (Szumska et al., 2015) o la regulación de la endocitosis de TG (Lee et al., 2021). En resumen, es probable que el CP en el tiroides actúe como un biosensor global que regula la biosíntesis de hormonas tiroideas.

BIBLIOGRAFÍA

Fernández-Santos, J. M., Utrilla, J. C., Vázquez-Román, V., Villar-Rodríguez, J. L., Gutiérrez-Avilés, L., & Martín-Lacave, I. (2019). Primary Cilium in the Human Thyrocyte: Changes in Frequency and Length in Relation to the Functional Pathology of the Thyroid Gland. *Thyroid*, 29(4), 595-606.

<https://doi.org/10.1089/thy.2018.0401>

Lee, J., Sul, H. J., Kim, K.-H., et al. (2021). Primary Cilia Mediate TSH-Regulated Thyroglobulin Endocytic Pathways. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 700083.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.700083>

Szumska, J., Qatato, M., Rehders, M., Führer, D., Biebermann, H., Grandy, D. K., Köhrle, J., & Brix, K. (2015). Trace Amine-Associated Receptor 1 Localization at the Apical Plasma Membrane Domain of Fisher Rat Thyroid Epithelial Cells Is Confined to Cilia. *European Thyroid Journal*, 4(1), 30-41.

<https://doi.org/10.1159/000434717>

Virus de Epstein-Barr y esclerosis múltiple: causalidad y oportunidades terapéuticas.

María Castillo Persiva

Facultad de Ciencias Biológicas, UV

INTRODUCCIÓN

El virus de Epstein-Barr (VEB) es un herpesvirus que, con tal de mantenerse en el hospedador, adopta ciertos mecanismos celulares en los que se aprovecha de la correspondiente maquinaria epigenética. Se ha estudiado la implicación de este virus en la etiología de varios tipos de cáncer; sin embargo, existen evidencias de su participación en la aparición de la esclerosis múltiple (enfermedad autoinmune inflamatoria del sistema nervioso).

El VEB afecta al 95% de la población y puede persistir a lo largo de la vida de los pacientes. En la presente revisión bibliográfica se estudia dicho virus como principal factor de riesgo de la esclerosis múltiple. Los principales mecanismos estudiados que relacionan al VEB con la patología se fundamentan en la explotación de la maquinaria celular de los linfocitos B (con el fin de propagar y establecer una infección latente). En este trabajo se recogen otras estrategias como el mimetismo molecular, la entrada al sistema nervioso central, la inflamación asociada al virus o la desregulación del sistema inmune.

La comprensión de la patobiología de la esclerosis múltiple es fundamental para identificar las oportunidades de prevención e intervención terapéutica. En este póster se profundiza en este campo a través del ejemplo del uso de anticuerpos monoclonales en la terapia con Ocrelizumab.

BIBLIOGRAPHY

Aloisi, F., Giovannoni, G., & Salvetti, M. (2023). Epstein-Barr virus as a cause of multiple sclerosis: opportunities for prevention and therapy. *The Lancet Neurology*, 22(4), 338–349.

[https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(22\)00471-9](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(22)00471-9)

Soldan, S. S., & Lieberman, P. M. (2022). Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *Nature Reviews Microbiology*, 21(1), 51–64. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00770-5>

Vietzen, H., Berger, S. M., Kühner, L. M., Furlano, P. L., Bsteh, G., Berger, T., Rommer, P., & Puchhammer-Stöckl, E. (2023). Ineffective control of Epstein-Barr-virus-induced autoimmunity increases the risk for multiple sclerosis. *Cell*, 186(26), 5705-5718.e13.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.11.015>

Zulet, M. I., Fontes, L. P., Blanco, T. A., Bescos, F. L., & Iriarte, M. M. (2015). Modificaciones epigenéticas en neurología: alteraciones en la metilación del ADN en la esclerosis múltiple. *Neurología*, 32(7), 463–468. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.03.011>

Impacto de la depleción de arginina en la infiltración inmune y la eficacia terapéutica en modelos de glioblastoma resecao.

*del Campo Alcoba C, Rafii-El-Idrissi-Benhnia M, Hajji N**

Universidad de Sevilla

INTRODUCCIÓN

Las terapias preclínicas en glioblastoma (GBM) a menudo no consideran el impacto de la resección quirúrgica, un procedimiento estándar en el tratamiento de los pacientes, lo que podría contribuir al fracaso de muchos ensayos clínicos. Este estudio investiga cómo la privación de arginina mediante ADI-PEG20 afecta la polarización e infiltración inmune en el microambiente tumoral post-resección y cómo esto podría influir en la eficacia de la radioterapia (RT) y temozolomida (TMZ) en modelos de GBM resecao.

MATERIAL Y MÉTODOS

Utilizamos modelos ortotópicos de glioblastoma en ratones inmunocompetentes C57BL/6J (GL261) para estudiar inicialmente los efectos de la depleción de arginina en la sangre circulante y, posteriormente, la respuesta inmune post-resección. Los ratones fueron tratados con ADI-PEG20 para inducir la depleción de arginina y fueron escaneados por bioluminiscencia para monitorear y evaluar el crecimiento tumoral con y sin resección. La infiltración del sistema inmune se analizó mediante citometría de flujo y análisis *in silico* de datos transcriptómicos de tumores de GBM en pacientes (n=150), estudiando 20 tipos celulares del sistema inmunológico.

RESULTADOS

Los resultados preliminares indicaron que la depleción de arginina mediante ADI-PEG20 redujo significativamente la recurrencia tumoral en modelos de glioblastoma resecao. Además, la privación de arginina modula la polarización de células inmunológicas, promoviendo una infiltración inmune más activa, particularmente de células T CD8+ citotóxicas, que son componentes clave del sistema inmunológico en la lucha contra tumores. El análisis *in silico* de la infiltración inmune en tumores de GBM en pacientes mostró que solo un pequeño subconjunto de células inmunológicas (células NK, T CD4+, monocitos y células B) tiene una correlación positiva con la infiltración en el microambiente tumoral, mientras que la mayoría presenta una correlación negativa o no significativa. Estos hallazgos sugieren que algunas células inmunológicas podrían polarizarse hacia funciones protumorales, lo que podría afectar la respuesta al tratamiento después de la resección tumoral.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Los resultados respaldan la hipótesis de que la depleción de arginina podría potenciar la respuesta inmune y la eficacia terapéutica en modelos de GBM resecao. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos (Hajji et al., 2022; Hajji et al., 2018) que demostraron que la privación de arginina alteraba la polarización microglial y mejoraba la respuesta a la radioterapia. Este enfoque representa una estrategia prometedora para mejorar las terapias para GBM, especialmente en el contexto post-resección, y podría conducir al desarrollo de tratamientos más efectivos y personalizados para pacientes con GBM.

BIBLIOGRAFÍA

Hajji, N^{*}, Przystal, J. M^{*}, et al. (2018). Efficacy of arginine depletion by ADI-PEG20 in an intracranial model of GBM. *Cell Death Dis.*, 9(12), 1192. (*equal work).

Hajji, N^{*}, et al. (2022). Arginine deprivation alters microglial polarity and synergizes with radiation to eradicate non-arginine-auxotrophic glioblastoma tumors. *J Clin Invest.*, 132(6), e142137.

(*) Corresponding author: nhajji1@us.es

Takotsubo cardiomyopathy.

INTRODUCCIÓN

Takotsubo cardiomyopathy, also known as stress cardiomyopathy or "broken heart syndrome," is a transient cardiac condition characterized by left ventricular systolic and diastolic dysfunction. First described in Japan in 1990, its name derives from the Japanese term takotsubo, meaning "octopus trap," due to the characteristic left ventricular apical ballooning observed in imaging studies. Despite significant research over the past decades, its pathophysiology remains only partially understood.

Clinically, Takotsubo cardiomyopathy mimics acute coronary syndrome (ACS), as patients typically present with chest pain, electrocardiographic changes, and elevated cardiac biomarkers. However, coronary angiography typically reveals no obstructive coronary artery disease.

MATERIAL Y MÉTODOS

This study utilized data from the International Takotsubo Registry, which includes 26 cardiovascular centers across Europe and the United States. A total of 1,750 patients diagnosed with Takotsubo cardiomyopathy between 1998 and 2014 were included in the analysis. Patients were identified based on the Mayo Clinic diagnostic criteria, which require:

- Transient left ventricular wall-motion abnormalities extending beyond a single coronary artery territory.
- Absence of obstructive coronary artery disease or acute plaque rupture.
- Electrocardiographic abnormalities or elevated cardiac troponin levels.
- Exclusion of pheochromocytoma and myocarditis as potential causes.

A subgroup of 455 patients with Takotsubo cardiomyopathy was matched by age and sex with 455 patients with ACS to allow for comparative analysis. Baseline characteristics, cardiovascular risk factors, and coexisting conditions (neurological or psychiatric disorders) were recorded. Diagnostic tests included electrocardiography, echocardiography, cardiac biomarkers, and coronary angiography. Takotsubo cardiomyopathy was further classified into four types based on left ventricular involvement: apical (81.7%), midventricular (14.6%), basal (2.2%), and focal (1.5%).

Data were analyzed using Wilcoxon rank-sum tests for continuous variables and chi-square or Fisher's exact tests for categorical variables. Kaplan-Meier survival estimates and Cox regression models were used for long-term outcome analysis.

RESULTADOS

Among the 1,750 patients diagnosed with Takotsubo cardiomyopathy, 89.8% were women, with a mean age of 66.8 years (± 13.0). The predominant symptom at presentation was chest pain (75.9%), followed by dyspnea (46.9%) and syncope (7.7%). Physical stressors (e.g., acute illness, surgery) were more common than emotional triggers (36.0% vs. 27.7%), and 28.5% of cases had no identifiable trigger.

Compared to ACS patients, those with Takotsubo cardiomyopathy had a higher prevalence of neurological (27.0%) and psychiatric (42.3%) disorders, with a significant proportion suffering from affective disorders. On admission, troponin levels were elevated in 87.0% of patients, though to a lesser extent than in ACS. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was significantly lower in Takotsubo patients ($40.7\% \pm 11.2\%$ vs. $51.5\% \pm 12.3\%$; $P < 0.001$). Despite a transient nature, 21.8% of Takotsubo patients experienced serious in-hospital complications, comparable to ACS patients.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

This study highlights that Takotsubo cardiomyopathy is not merely a benign, self-limiting disorder but an acute heart failure syndrome associated with significant morbidity and mortality. The strong association with neurological and psychiatric conditions underscores the potential role of the brain-heart axis in its pathophysiology. Patients with physical stressors, high troponin levels, or severe ventricular dysfunction were at a higher risk of complications.

Long-term follow-up revealed that the mortality rate was 5.6% per patient-year, with a major adverse cardiac and cerebrovascular event rate of 9.9% per patient-year. Although beta-blockers were historically suggested as a preventive therapy, they did not demonstrate a survival benefit. In contrast, the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEi) or angiotensin receptor blockers (ARB) was associated with improved survival outcomes.

BIBLIOGRAFÍA

Templin, C., Ghadri, J. R., Diekmann, J., Napp, L. C., Bataiosu, D. R., Jaguszewski, M., Cammann, V. L., Sarcon, A., Geyer, V., Neumann, C. A., Seifert, B., Hellermann, J., Schwyzer, M., Eisenhardt, K., Jenewein, J., Franke, J., Katus, H. A., Burgdorf, C., Schunkert, H., & Moeller, C. (2015). Clinical Features and Outcomes of Takotsubo (Stress) Cardiomyopathy. *New England Journal of Medicine*, 373(10), 929–938. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1406761>

Kenan Yalta, Madias, J. E., Kounis, N. G., Shams Y-Hassan, Polovina, M., Servet Altay, Alexandre Mebazaa, Yilmaz, M. B., Lopatin, Y., Mamas, M. A., Gil, R. J., Ritu Thamman, Abdallah Almaghraby, Bozkurt, B., Bajraktari, G., Fink, T., Vassil Traykov, Manzo-Silberman, S., Ulvi Mirzoyev, & Sekib Sokolovic. (2024). Takotsubo Syndrome: An International Expert Consensus Report on Practical Challenges and Specific Conditions (Part-1: Diagnostic and Therapeutic Challenges). *Balkan Medical Journal*. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2024.2024-9-98>

Lyon, A. R., Citro, R., Schneider, B., Morel, O., Ghadri, J. R., Templin, C., & Omerovic, E. (2021). Pathophysiology of Takotsubo Syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(7), 902–921. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.10.060>

Akhtar, M., Cammann, V. L., Templin, C., Ghadri, J. R., & Lüscher, T. F. (2023). Takotsubo syndrome: getting closer to its causes. *Cardiovascular Research*, 119(7), 1480–1494. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad053>

Alteraciones del “poliaminoma” en el Síndrome Idic15: una enfermedad rara del neurodesarrollo.

Ferrús Manzano P, García Pérez MA, Orquín González MA, Codoñer Franch P, O'Connor Blasco JE, Alonso Iglesias E.

Universitat de Valencia

INTRODUCCIÓN

Las poliaminas son policationes ubicuos con funciones clave en la práctica totalidad de procesos biológicos y, en consecuencia, en el desarrollo y funcionamiento del organismo. Sus niveles están sometidos a una regulación estricta habiéndose relacionado muy recientemente su desregulación con sólo tres desórdenes del neurodesarrollo. Duplicaciones variables en la región q11-q13 del cromosoma 15 son la causa del Idic15, un raro síndrome del neurodesarrollo que, como parte de un proyecto multidisciplinar en curso (OTR2016-17153INVES; Proyecto “Una casa una vida” financiado por Great Chance SLU y otras donaciones), estamos explorando a nivel metabólico. Nuestros análisis previos de las poliaminas principales (putrescina, espermidina y espermina) mediante HPLC apuntaban a una elevación de la excreción urinaria de putrescina asociada al Idic15 abriendo así la posibilidad de que la desregulación del metabolismo de las poliaminas juegue un papel primario o secundario en la etiopatogenia y/o sintomatología de este síndrome. El presente trabajo pretende profundizar en esta hipótesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Análisis del “poliaminoma” mediante UHPLC-MS/MS (Centre for Omic Sciences (COS) Joint Unit of the Universitat Rovira i Virgili and Eurecat) en suero y orina de 28 pacientes españoles afectados de Idic15 (<http://www.idic15.es/>) y 17 controles pareados por edad, sexo y área geográfica. La longitud de las duplicaciones se estableció mediante cCGH array y las manifestaciones clínicas a partir de las historias clínicas. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS v25 para Windows.

RESULTADOS

Nuestros resultados indican que no sólo los niveles urinarios de putrescina sino también los de sus precursores (arginina y ornitina) y metabolitos derivados (gaba, espermidina, derivados N-acetilados de la putrescina y la espermidina) se encuentran significativamente elevados en los pacientes Idic15, principalmente en los portadores de una duplicación génica larga (BP1-BP5). No se observa relación de estos cambios con las manifestaciones clínicas. Sin embargo, se correlacionan fuertemente con diferentes indicadores de activación endotelial y de estrés oxidativo.

DISCUSIÓN / CONCLUSIONES

Las alteraciones observadas en el poliaminoma urinario de los pacientes idic15 merecen ser confirmadas en poblaciones más amplias para evaluar su potencial como marcadores diagnósticos y/o pronósticos del síndrome, así como su utilidad para la detección y el manejo de esta patología.

BIBLIOGRAFÍA

Battaglia, A., 2005. The inv dup(15) or idic(15) syndrome: A clinically recognisable neurogenetic disorder. *Brain Dev.* 27, 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2004.08.006>.

Chamberlain, S.J., Lalande, M., 2010. Neurodevelopmental disorders involving genomic imprinting at human chromosome 15q11–q13. *Neurobiol. Dis.* 39, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.03.011>.